

Aus dem Institut für Strahlenbiologie und medizinische
Isotopenanwendung

(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. H. GRAUL)

Die klinische Brauchbarkeit verschiedener in - vitro - Tests in der Schilddrüsenfunktionsdiagnostik

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Alfred Brase

aus Linderode/Sorau

Marburg 1968

Aus dem Institut für Strahlenbiologie und medizinische
Isotopenanwendung
(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. H. GRAUL)

Die klinische Brauchbarkeit verschiedener in - vitro - Tests in der Schilddrüsenfunktionsdiagnostik

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Alfred Brase

aus Linderode/Sorau

Marburg 1968

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 30.4.1968

Dekan: Prof.Dr.med. R. Siegert

Referent: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E. H. G R A U L

Correferent: Doz. Dr. med. W. Teller

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

1. E i n l e i t u n g	
1.1. Bedeutung der in-vitro-Teste für die Schilddrüsenfunktionsdiagnostik.	Seite 1
1.2. Die Schilddrüsenhormone und ihr Transportmechanismus im Blut.	Seite 2
2. Methodik	
2.1. Arbeitsgang: Erythrozyten-Aufnahmetest nach H. A M O L S K Y	Seite 3
2.2. Arbeitsgang: Ionenaustauscher-Bindungstest nach W O L D R I N G	Seite 4
2.3. Arbeitsgang: Serum- T_3 -Test mit Gel-Filtration	Seite 6
2.4. Arbeitsgang: Serum- T_3 -Test mit dem Signette-Ionenaustauscherschlauch	Seite 8
2.2. 1. Meßmethodik	Seite 10
3. Ergebnisse von Untersuchungen über die methodischen Grundlagen des Signette- T_3 -Testes.	
3.1. Abhängigkeit von der Inkubationszeit	Seite 12
3.2. Abhängigkeit von der Temperatur	Seite 12
3.3. Qualität der Signette-Schläuche	Seite 12
3.4. Häufigkeit der Anwendung der Signette-Schläuche	Seite 15
3.5. Verteilung der an Austauscherharz gebundenen Aktivität auf dem gesamten Signette-Schlauch	Seite 15
3.6. Art und Menge der Spülflüssigkeit	Seite 15
3.7. Konzentrationsänderungen bei gleichem Flüssigkeitsvolumen	Seite 15
3.8. Veränderung des Flüssigkeitsvolumens bei gleicher T_3 -Konzentration	Seite 17
3.9. Abhängigkeit vom Alter der T_3 -Lösung	Seite 17
4. Krankengut	Seite 19
5. Klinische Ergebnisse	
5.1. Synopsis über die Ergebnisse des Signette- T_3 -Tests, des EAT und des 2-Phasen-Radiojodtests	Seite 20
5.2. Ergebnisse des W O L D R I N G - und des Sephadex-Tests bei den einzelnen Schilddrüsenfunktionszuständen	Seite 20

5.3.	Abgrenzung der verschiedenen Schilddrüsenfunktionszuständen mit dem Signette- T_3 -Test und dem EAT	Seite 25
5.4.	Abhängigkeit des Signette- T_3 -Tests von der Gestationsdauer	Seite 26
6.	D i s k u s s i o n	
6.1.	Weitere Untersuchungsmethoden in der Schilddrüsenfunktionsdiagnostik	Seite 29
6.1.1.	Nicht nuklearmedizinische Methoden	Seite 29
6.1.2.	Nuklearmedizinische in-vivo-Diagnostik	Seite 30
6.1.3.	Nuklearmedizinische in-vitro-Diagnostik	Seite 30
6.2.	Vier verglichene in-vitro-Teste	
6.2.1.	H A M O L S K Y - Test	Seite 33
6.2.2.	W O L D R I N G - Test	Seite 36
6.2.3.	Sephadex-Test	Seite 38
6.2.4.	Signette- T_3 -Test	Seite 39
6.3.	Diskussion der klinischen Ergebnisse des H A M O L S K Y- und Signette-Tests	Seite 44
6.3.1.	Bei Differentialdiagnose der Schilddrüsen-dysfunktionen	Seite 44
6.3.2.	Extrathyreoidale Einflüsse	Seite 45
6.3.3.	Schwangerschaft	Seite 45
7.	Zusammenfassung	Seite 50
8.	Literaturnachweis	

Die klinische Brauchbarkeit verschiedener in-vitro-Teste
in der Schilddrüsenfunktionsdiagnostik.

Die Anwendung des 2-Phasen-Radiojod-Studiums in der Differentialdiagnostik der Schilddrüsenerkrankungen hat für die Klinik und Endokrinologie einen entscheidenden Fortschritt gebracht. Dennoch blieben Wünsche offen, die zur Entwicklung weiterer Untersuchungsmethoden geführt haben, um besonders störende Einflüsse, z.B. Jodmedikamentation, zu umgehen. Weiterhin war man bemüht, den teilweise erheblichen Zeit- und Arbeitsaufwand zu verkürzen, und was uns am wichtigsten erscheint, die Strahlenbelastung für den Patienten zu reduzieren oder bestenfalls ganz zu vermeiden. Unter diesen Gesichtspunkten wurden in der Vergangenheit verschiedene Reagenzglasmethoden entwickelt, um die in-vivo-Untersuchungen mit ihrem relativ hohen diagnostischen Wert durch brauchbare und leicht durchzuführende in-vitro-Tests zu ergänzen, aber nicht völlig zu ersetzen.

Einige Laboratoriumsmethoden für die Schilddrüsenfunktionsdiagnostik ausserhalb des nuklearmedizinischen Bereiches haben noch heute für die kleinen Kliniken ihre besondere Bedeutung, so die Bestimmung des Grundumsatzes, des Serumcholesterins, der Stickstoff- und Kreatinin-ausscheidung. Dazu kommen als wertvolle Methoden die Bestimmung des gesamten Serumjods und des Hormonjods, sei es in der Form des PBI (Protein Bound Iodine) oder des BEI (Butanol Extractable Iodine), die wegen ihres Arbeitsaufwandes und der experimentellen Schwierigkeiten nur großen Kliniken vorbehalten bleiben.

Gegenstand der vorgelegten Arbeit soll es sein, den Erythrozyten-Bebrütungstest nach HAMOLSKY, den Ionenaustauscher-Bindungstest nach WOLDRING sowie die am hiesigen Institut entwickelten Tests mit der Sephadex-Säule und dem Signette-Ionenaustauscherschlauch miteinander zu vergleichen. Dieser Vergleich gilt sowohl der methodischen Brauchbarkeit (d.h. dem Arbeits- und Zeitaufwand, der Fehlerbreite und der Abhängigkeit von Störfaktoren) als auch der klinischen Treffsicherheit.

Theorie:

Als echte Schilddrüsenhormone müssen im Blut das Thyroxin (T_4), das 3, 5, 3' Trijod-Thyronin (T_3) und wahrscheinlich noch das 3,3 Dijod-Thyronin (T_2) angesehen werden, obgleich noch weitere Jodverbindungen analysiert werden konnten. (KLEIN 1952, GROSS PITT-RIVERS 1953, ROCHE et al 1952).

Das Verhältnis von T_4 zu T_3 im Plasma beträgt im Durchschnitt 95 : 5. Der Transport der Hormone erfolgt normalerweise durch bestimmte Eiweißkörper des Blutes, mit denen sie eine reversible, aber recht unterschiedliche Bindung eingehen. Diese Transportvehikel stammen für das T_4 vor allen Dingen aus der sogenannte Inter- α -Fraktion des α_1 - α_2 Globulins und zum kleineren Teil von den Albuminen und Praealbuminen, wie mit elektrophoretischen Verfahren nachgewiesen werden konnte, und werden zusammen als TBP-Komplex bezeichnet.

Dagegen zeigt das T_3 eine besondere Affinität zum Albumin und Globulin. Aber auch das TBP soll größere Mengen T_3 in Abhängigkeit der T_4 -Konzentration im Plasma adsorbieren können (LYBECK 1958). Nach STERLING (1964) ist die Bindungskonstante für das 3, 5, 3' - Trijod-l-Thyronin am Albumin annähernd ein Zehntel so groß wie für das Thyroxin bei einem eingestellten pH von 7,4. Daneben kommen die Schilddrüsenhormone in freier dissoziierter Form vor. (KLEIN 1953, HORST 1953, FRÄNKEL 1955).

Die spezifische Bindungskapazität der Serumproteine wird von den Hormonen nie voll ausgenutzt. Bei einem normalen Hormonjodspiegel von 3,0 - 8,0 $\mu\text{g}\%$ könnten noch zusätzliche 20 $\mu\text{g}\%$ gebunden werden. Nur bei schwerster Hyperthyreose kann eine vollständig abgesättigte Bindungskapazität des Serumeiweißes vorliegen (WALFISH 1962). Bei Hypothyreosen und Euthyreosen ist das TBP entsprechend der Hormonkonzentration im Plasma nur zum Teil, dagegen bei Hyperthyreosen weitgehend abgesättigt. Je höher die Absättigung der Trägerproteine

also ist, um so weniger kann z.B. exogen zugesetztes T_4 oder T_3 gebunden werden. Diese Tatsache wird bei den in-vitro-Tests ausgenutzt. Eine quantitative Bestimmung der noch freien Bindungskapazität des Serums würde aufwendige Methoden erfordern. Dennoch läßt sich ihre relative Größenordnung mit Hilfe der in-vitro-Tests, wie oben angeführt wurde, gut abschätzen und standardisieren und kann als Maß für die Schilddrüsenfunktion mit herangezogen werden.

Im Jahre 1957 berichteten HAMOLSKY et al. erstmalig über ihre Erfahrungen mit dem $^{131}\text{J}-T_3$ -Erythrozyten-Aufnahmetest (EAT). HAMOLSKY konnte nachweisen, daß radioaktiv markiertes T_3 von den Erythrozyten adsorbiert wird und daß die T_3 -Aufnahme in Abhängigkeit von den jeweiligen Schilddrüsenfunktionszuständen erfolgt. Die Erythrozyten stellen sekundäre Bindungsträger für das freie dissoziierte T_4 bzw. T_3 dar. Inzwischen sind in verschiedenen Laboratorien die Untersuchungen nachvollzogen, zum Teil modifiziert worden, in Deutschland besonders von GRAUL et al. (1962) und KEIDERLING et al. (1962).

Unseren Versuchen legten wir die Methodik von HAMOLSKY et al. und GRAUL et al. zugrunde.

Arbeitsgang:

Von jedem Patienten werden 9,5 ml Blut mit 0,5 ml Na-citrat-Lösung (3,8%) entnommen und in bereitgestellte Gläschen gebracht. Bis zur weiteren Verwendung werden die Gläschen mit Gummistopfen verschlossen und im Kühlschrank aufbewahrt. Das Blut soll noch am gleichen Tage verarbeitet werden. Der Arbeitsgang gliedert sich in folgende Schritte auf:

1. Im Doppel werden 3 ml dieses Na-citr.-Blutes in verschließbare 10 ml Erlenmeyer-Kolben pipettiert und mit 0,1 ml T_3 -Lösung versetzt (0,1 ml T_3 entsprechen etwa $60 \times 10^{-4} \mu\text{g } T_3$, markiert mit $0,05 \mu\text{Ci } ^{131}\text{J}$).

2. Das Vollblut im Erlenmeyerkolben wird bei 37°C in einem

Wasserbad 2 Stunden unter ständigem Schütteln inkubiert. (Als Schüttelleinrichtung mit konstanter Temperatur diente uns eine Warburg-Apparatur.)

3. Nach erfolgter Inkubation überführen wir aus jedem Kolben 2 x je 1,0 ml Blut in bereitgestellte Gläschen und bestimmen die ^{131}J -Aktivität des Vollblutes im Bohrloch.

4. Das Aliquote wird 5 Min. bei 3000 U/min. zentrifugiert und das überstehende Plasma mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe entfernt.

5. Das Erythrozytensediment wird 3 x mit 5 ml 0,9%iger Na-Cl-Lösung gewaschen.

6. Die Radioaktivität der Erythrozytenfraktion wird im Bohrlochkristall bestimmt. Wegen der Meßgeometrie werden die Röhrchen bis 1 ml mit NaCl aufgefüllt, und die Erythrozytenschicht vor dem Messen leicht aufgeschüttelt.

I. Die Messung der Aktivität der Erythrozyten gibt an, wieviel $^{131}\text{J-T}_3$ von den Erythrozyten aus dem Plasma aufgenommen worden ist.

7. Schließlich wird die prozentuale Ery- T_3 -Aufnahme errechnet und auf einen HK-Wert zu 100 korrigiert. Es gilt der Durchschnittswert von den 4 Bestimmungen

$$\text{EAT\%} = \frac{\text{Imp Ery} \times 100}{\text{Imp. 1ml Vollblut}} \times \frac{100}{\text{HK}}$$

Der HK-Wert wird aus dem zur Bebrütung vorgesehenen Vollblut bestimmt. Es werden immer Doppelbestimmungen durchgeführt. Benutzt werden van-Allen-Röhrchen, die 25 Min. bei 1500 g zentrifugiert werden.

II. Die Abhängigkeit des EAT von verschiedenen Störfaktoren, wie sie im Hauptteil diskutiert werden sollen, führte dazu, die Erythrozyten durch Medien mit konstanten Eigenschaften zu ersetzen. Hier boten sich die Austauschharze an. Zuerst MITCHELL und O'ROURK (1959), später DOWLING (1960) und mehrere andere Untersucher

benutzten an Stelle der Erythrozyten einen Ionenaustauscher (AMBERLITE IRA 400). Ihre Methoden wurden später von STERLING und TABACHNIK (1960/61) sowie WOLDRING (1961) geringfügig modifiziert.

Für unsere Untersuchungen benutzten wir die Methode nach WOLDRING, wie sie im deutschen Schrifttum von KLEIN et al. (1964) und BÖRNER (1964) modifiziert beschrieben wird.

Arbeitsgang:

1. 20 mg Amberlite CG 50 Typ 2 (Kationen-Austauscher im H^+ -Zyklus) werden in bereitgestellte Gläschen abgemessen und mit 2 ml phys. NaCl-Lösung aufgefüllt.
2. Im Doppel wird in jedes Gläschen 0,5 ml Serum gegeben und mit $^{131}J-T_3$ in 0,1 ml Flüssigkeitsvolumen versetzt, das wiederum etwa $60 \times 10^{-4} \mu g T_3$, markiert mit $0,05 \mu Ci \ ^{131}J$, entspricht.
3. Die Inkubation erfolgt über 2 Stunden im Wasserbad bei einer Temperatur von $37^\circ C$ unter ständigem Schütteln (auch hier benutzen wir die Warburg-Apparatur).
4. Nach der Inkubation wird zunächst die Gesamtaktivität des Ansatzes im Bohrloch gemessen, und nach dem Zentrifugieren (5 min. bei 1500 g) der Überstand mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt.
5. Das Harzsediment wird unter gleichen Bedingungen 4 x mit jeweils 5 ml Kochsalzlösung (0,9%) gewaschen und anschließend die Aktivität des Harzes als sogenannte Restaktivität im Bohrlochzähler gemessen.
6. Der Quotient aus der erhaltenen Restaktivität durch die Gesamtaktivität stellt den Funktionsfaktor dar.

$$F = \frac{\text{Restaktivität} \times 100}{\text{Gesamtaktivität}}$$

III. Sephadextest:

Bei dem in unserem Institut entwickelten Serum- T_3 -Test mit Gel-Filtration findet das Dextran-Gel Sephadex G-25 eine Verwendung, das nach seiner offiziellen Beschreibung in seiner Eigenschaft

als Molekularsieb neutral und frei von aktiven Gruppen sein soll.

Arbeitsgang:

1. Die Präparation der Säulen erfolgt jeweils am Tage vorher, 3 gr. Sephadex G-25 fine werden mit ca 10 ml Phosphatpuffer angesetzt und 3-4 Stunden quellen lassen. In die Säule von 28cm Länge und 1,5cm Durchmesser wird zuvor etwas Glaswolle gelegt, anschließend das gequollene Sephadex eingebracht. Dabei muß die Flüssigkeitsmenge so bemessen sein, daß das gesamte gequollene Sephadex in der Säule Platz findet.

Beim Einbringen in die Säule ist darauf zu achten, daß sich das Gel gleichmäßig absetzt und sich keine Luftblasen bilden.

Ein gleichmäßiges Packen der Säule muß gewährleistet sein. An einer Ringbildung im Gel kann man erkennen, wann der Säulenhahn geschlossen werden muß. Nach Verschwinden des Ringes kann er wieder geöffnet werden usw. Bei diesem Vorgang ist die Säule genau senkrecht in eine Halterung eingespannt.

2. Für die Inkubation werden 3 ml Serum in einen verschließbaren Erlenmeyerkolben pipettiert, mit 0,1 ml T_3 versetzt (was wiederum $60 \times 10^{-4} \mu\text{g } T_3$ entspricht) und unter ständigem Schütteln im Wasserbad bei 37°C 15 Min. lang bebrütet.

Inzwischen werden die Säulen durch 10 Min. Vorlauf mit Phosphatpuffer erneut stabilisiert.

Im Doppel werden jeweils 1 ml bebrütetes Serum im Bohrloch gemessen und anschließend vorsichtig in die Säule gebracht.

Dabei darf auf keinen Fall die Geloberfläche aufgewühlt werden. Man läßt jetzt das Serum in das Gelbett eindringen und pipettiert zunächst nur 1 ml Pufferlösung nach. Erst dann soll die Säule völlig mit Puffer aufgefüllt werden. Das Sammeln der Fraktionen beginnt nach dem Einbringen des Serums in die Säule.

Die Laufgeschwindigkeit soll 8-12 Tropfen pro min. betragen. Für den Test genügen 14-16 ml Eluat, die in ebenso viel Röhrchen aufgefangen werden. Die gesammelte Eluatmenge von jeweils 1 ml im einzelnen Röhrchen wird im Bohrlochkristall unter gleichen

Bedingungen gemessen. Die Auswertung ergibt 2 Aktivitätsgipfel. Die Errechnung der Ergebnisse wird wie folgt vorgenommen:

$$\frac{\text{Imp. des 1. Gipfels} \times 100}{\text{Gesamtimp.} - (\text{Restimp.} + \text{Imp. d. 2. Gipfels})} = \text{proteingebundenes } T_3$$

Unter Restimpulse sind die Impulse zu verstehen, die beim Umpipettieren des Serums in die Säulen im Gläschen und in der Pipette geblieben sind. Bei den täglichen Untersuchungen lief grundsätzlich immer ein Testserum mit, das als Poolserum von Normalpersonen gewonnen wurde.

Signettetest:

Bei dem Signette-Ionenaustauscherschlauch handelt es sich um einen PVC-Schlauch von 17cm Länge und 2,5 mm innerem Durchmesser, der mit einem stark basischen Anionenaustauscher durchschnittlicher Vernetzung (8% DNB) mit einer Siebzahl zwischen 20 und 50 mesh gefüllt ist, vergleichbar den anderen Ionenaustauschern Amberlite IRA 400, DOWEX 2 x 8, DUOLITE A 101 D und MERCK 3. Der Austauscher liegt in der Cl^- -Form vor.

Arbeitsgang:

Der Austauscherschlauch wird über ein Glasröhrchen von 12cm Länge und 1,8 mm innerem Durchmesser und einem Kupplungsstück aus Gummi mit einer 2ml-Einmal-Spritze verbunden. Spritze (2ml) und Glasröhrchen (0,5 ml) sind mit 2,5 ml bidestilliertem Wasser gefüllt, das als Spülflüssigkeit dient. Diese Anordnung wird jetzt in die Signette eingespannt, die nach Auslösung mit einer Vorlaufzeit von 3 min. dem Inhalt der Spritze gleichmäßig durch den Schlauch treibt. Der gesamte Rücklauf der Apparatur dauert ebenso lange. In Doppelbestimmung setzen wir zu je 0,3 ml Serum 0,1 ml T_3 -Lösung hinzu, was einer T_3 -Menge von $10 \times 10^{-4} \mu g$ entspricht, inkubieren 6 Min. (Zeit des Hin- und Rücklaufes des Apparates) bei Zimmertemperatur und messen in der Zwischenzeit die Ausgangsaktivität im Bohrlochkristall. Die Serum- T_3 -Lösung wird mittels einer Einmalspritze und einer 1er Kanüle langsam und vollständig aufgezogen und durch das Kupplungsstück nahe dem Konus der mit

Spülflüssigkeit gefüllten Spritze injiziert.

Das Serumgemisch liegt jetzt zwischen Austauscherschlauch und Spritze im Glasröhrchen. Durch Auslösen des Gerätes wird zunächst das Serum und dann die Waschflüssigkeit durch den Austauserschlauch in ein Auffangröhrchen gedrückt. Die Plastikspritze, mit der das Serum- T_3 -Gemisch aufgezogen wurde, wird mit 1 ml Spülflüssigkeit gefüllt und durch die vorher benutzte Kanüle in das Röhrchen mit der Ausgangsaktivität geleert. Dies wird später als Restaktivität gemessen und von der Ausgangsaktivität abgezogen.

Im Auffangröhrchen wird das nicht vom Ionenaustauscher gebundene T_3 und die Spülflüssigkeit gesammelt. Die Vor- und Rücklaufzeit des Gerätes von 6 Min. kann inzwischen zu folgenden Arbeiten benutzt werden:

1. Vor dem Injizieren des Serum- T_3 -Gemisches wird schon die nächste Serumprobe mit T_3 versetzt. Nach dem Start des Gerätes wird die Restaktivität der bearbeiteten Probe und die Ausgangsaktivität der nächsten Probe gemessen.
2. Nach dem Durchlauf wird die Signette für den neuen Start vorbereitet und die aufgefangene Lösung unter den gleichen Bedingungen gemessen. Dieser Arbeitsgang wiederholt sich nun laufend je nach Anzahl der anstehenden Proben.

Um unsere Berechnungen mit anderen Autoren vergleichen zu können, ermitteln wir den Anteil des am Austauscher gebundenen $^{131}J-T_3$ in % nach folgender Gleichung:

$$\text{Anteil des an Austauscher gebundenen } T_3 = 100 - \frac{(\text{Imp. d. aufgef. Lösung-NE}) \times 100}{\text{Imp. d. Gesamtaktivität} - \text{Imp. der Restaktivität}}$$

Meßmethodik:

1. Als Testsubstanz benutzen wir das 3, 5, 3' (^{131}J)-1-Trijod-Thyronin, das wir unter seinem handelsüblichen Namen Thybon von den Farbwerken Hoechst, Frankfurt, 14tägig beziehen. Es wird in einer spezifischen Aktivität von 30 mCi pro mg geliefert und enthält normalerweise $12\text{ }\mu\text{g T}_3/\text{ml}$. Das T_3 ist in Propylen-glykol-Wasser 1 : 1 gelöst. Es wird nur 14 Tage lang benutzt, weil es danach infolge strahlenchemischer Veränderungen, die zu einer ständigen Zunahme von Zersetzungsprodukten $^{131}\text{J}^-$, $^{131}\text{J}_2$ führen, keine ausreichende chemische Reinheit mehr besitzt (GRAUL et al.).

Sofort nach Eintreffen der neuen Charge werden die neuen Testlösungen angesetzt. Um vergleichbare Messungen zu schaffen, haben wir die T_3 -Konzentration immer in Abhängigkeit der T_3 -Menge in μg berechnet. Beim HAMOLSKY - WOLDRING - und Sephadex - Test haben wir es so gehandhabt, daß wir 0,1 ml Testsubstanz = $1,2\text{ }\mu\text{g T}_3$ mit 20 ml Phosphat-Pufferlösung verdünnten, zuerst bei Zimmer-temperatur, später bei $+4^\circ\text{C}$ im Eisschrank aufbewahrten. Die letzten Ansätze erfolgten zwar mit physiologischer NaCl-Lösung, was aber keine erkennbaren Unterschiede in den Ergebnissen brachte.

Beim Signette-Test sind wir anders verfahren. Hier wurden 4 Ansätze vorbereitet, für 3 Untersuchungstage also einer. Die Menge der Testsubstanz beträgt 0,1 ml Thybon, was normalerweise $1,2\text{ }\mu\text{g T}_3$ entspricht. Dazu kommen anfänglich ca 10 ml physiologische Kochsalzlösung. Zur Stabilisierung der Testlösung geben wir noch 0,12 ml 20% Humanalbumin hinzu und frieren die Lösung bis zum Tage des Gebrauchs ein. STERLING berichtet, daß er keine Veränderungen der Ergebnisse durch das zugesetzte Humanalbumin feststellen konnte. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren haben auf den Reinheitsgrad keinen Einfluß.

Vor Benutzung der T_3 -Lösung wird diese auf 100 ml mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt. 0,1 ml Testvolumen enthalten $0,0012\text{ }\mu\text{g T}_3$.

2. Die Impulszahlen für den ersten Ansatz liegen gewöhnlich zwischen 40 000 bis 80 000 Impulsen, für den Signette-Ansatz zwischen 10 000 und 30 000 Impulsen, jeweils bezogen auf 0,1 ml Flüssigkeitsvolumen T_3 .

3. Gemessen wurden alle Proben jeweils eine Minute bis auf die Restaktivität der Erythrozyten beim HAMOLSKY - Test. Diese wurden wegen der häufig geringeren Impulszahl zwei Minuten gemessen.

4. Die Ausführung der Messungen erfolgte mit einem Bohrloch - Szintillationsmeßplatz, bestehend aus der Grundsonde FH 421/ Z_1 , dem Gammameßkopf FH 421/ Z_6 , der Bleiabschirmung Bl 505a und dem Strahlungsmeßgerät FH 49. Es wurde bei einer Hochspannung von 1500 Volt und einer Eingangsempfindlichkeit von ca 40 mVolt gemessen.

Ansatz des Phosphat-Puffers.

Stammlösung I: prim. Na-phosph.	0,0218 m
	2,62 g/l
Stammlösung II: sec.Na-phosph.	0,1134 m
	16,06 g/l

Beide werden zunächst im Verhältnis 1 : 1 gemischt und dann auf einen pH-Wert von 7,4 eingestellt.

Methodische Ergebnisse:

Untersuchung zur Methodik und ihre Ergebnisse beim Signette-T₃-Test.

Die 3 erstbeschriebenen in-vitro-Teste sind in ihrer Methodik von uns so übernommen worden, wie sie in der Literatur angegeben werden. Für den Signette-T₃-Test wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Abhängigkeit von der Inkubationszeit

Gepooltes Serum wurde verschieden lang und bei bestimmten Temperaturen inkubiert (Abb. 2 S. 13). Danach zeigt sich, daß die Abweichung für die Kurven von 22° C und 37° C nach der 5. Minute in der methodischen Streubreite liegen. Wir wählten eine Inkubationsdauer von 6 Minuten bei Zimmertemperatur, die exakt eingehalten wurde.

2. Abhängigkeit von der Temperatur

Wir haben den Test bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt. Abb. 3 S. 14 zeigt die Versuchsanordnung und Abb. 4 S. 14 die Ergebnisse. Unsere Arbeitstemperatur bei den Routinetests lag durchweg bei 22° C (Raum im Keller) und nur selten, maximal bis 2° C, darunter, weshalb wir auf eine Korrektur verzichteten. Bei stark abweichenden Temperaturen von der normalen Arbeitstemperatur, in unserem Falle +22° C, müssen die Ergebnisse korrigiert werden.

Ob man sich dabei auf die Kurve in Abb. 4, S. 14 stützen kann, ist noch offen. Denn es muß bei dieser Versuchsanordnung berücksichtigt werden, daß mit steigender Temperatur eine zunehmende Durchlässigkeit des weich-PVC-Schlauches eintritt und vielleicht durch die temperierende Flüssigkeit des Colora-Ultra-Thermostats ein Dialyseeffekt unsere Ergebnisse modifiziert hat.

3. Abhängigkeit von der Qualität der Signetteschläuche.

Die Länge der Schläuche schwankt zwischen 16,5 und 17,5cm. Auf gleichmäßige Packung wurde stets geachtet. Solche, die Lücken oder Blasen aufwiesen, wurden aussortiert. Unter diesen Umständen testeten wir mit gepooltem Serum verschiedene Schläuche auf ihre



Abb. 1 Arbeitsplatz beim Signette- T_3 -Test.

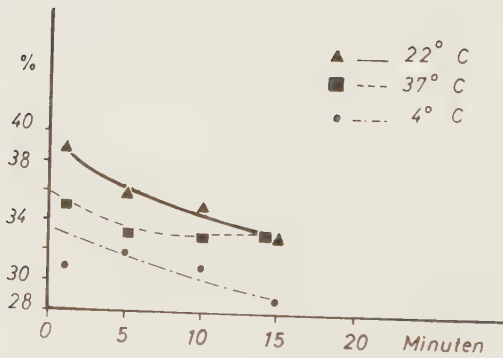


Abb. 2 Einfluß verschiedener Inkubationsdauer und Inkubationstemperaturen auf den Signette- T_3 -Test.

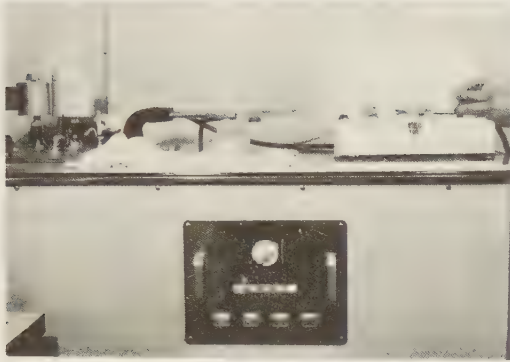


Abb. 3 Versuchsanordnung bei Überprüfung der Temperaturabhängigkeit des Signette- T_3 -Tests mit Hilfe des Ultrathermostaten (Colora).

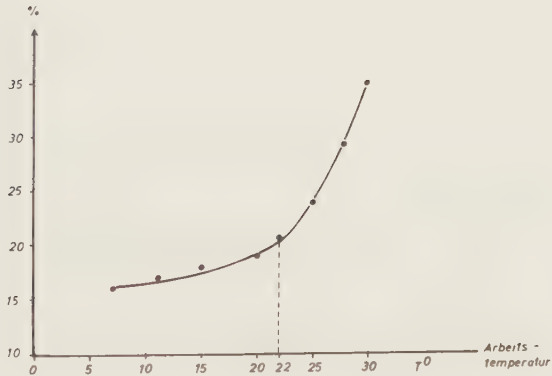


Abb. 4 Ergebnisse des Signette- T_3 -Tests mit gepooltem Serum bei verschiedenen Temperaturen.

einheitliche Aussagekraft hin. Wir konnten dabei niemals signifikante Abweichungen feststellen.

4. Abhängigkeit von der Häufigkeit der Anwendung der Schläuche.

Wir untersuchten die Signetteschläuche auf die Häufigkeit ihrer brauchbaren Anwendung und schickten dabei bis zu 10 Proben durch denselben Schlauch. Erst- und Endwert lagen durchweg bezogen auf den Mittelwert im Bereich der methodischen Fehlerbreite. Wir selbst benutzten den Schlauch jeweils viermal.

5. Verteilung der an Austauschharz gebundenen Aktivität auf den gesamten Schlauch.

Wir zerschnitten gebrauchte Schläuche in Stücke von ca 1,5cm und maßen diese einzeln im Bohrloch. Ihre Werte ergaben Kurven, wie sie in Abb. 5 S. 16 aufgetragen worden sind. Sie vermitteln einen Eindruck, wie das am Austauscherharz gebundene radioaktiv markierte Hormon auf dem gesamten Schlauch verteilt ist.

6. Abhängigkeit von der Menge der Spülflüssigkeit.

Als Spülflüssigkeit benutzten wir bidestilliertes Wasser. Nach unseren Erfahrungen sind 1,1 ml effektiv wirksame Spülflüssigkeit, wie wir sie als Standardbedingung verwenden, ausreichend. Wurden weit größere Mengen durch den Schlauch geschickt, konnte keine weitere Aktivität aus dem Schlauch ausgewaschen werden.

7. Abhängigkeit von der T_3 -Konzentration in μg bei gleichem Flüssigkeitsvolumen.

Getestet wurde gepooltes Serum mit verschiedener T_3 -Konzentration (gemessen in μg) vom 10fachen bis zum 0,25fachen der normalen T_3 -Menge (ca 0,0012 μg) in jeweils gleichem Flüssigkeitsvolumen von 0,1 ml. Dabei ergab sich bei den einzelnen Fraktionen keine Unterschiede, wie Abb. 6 S. 16 zeigt.

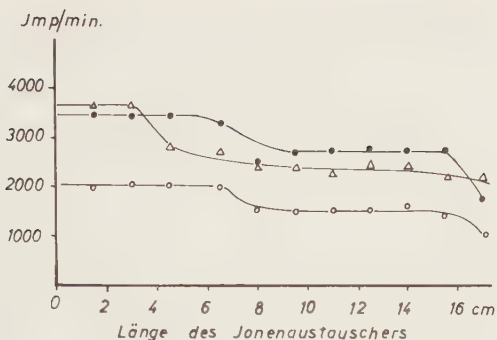


Abb. 5 Verteilung der harzgebundenen Radioaktivität auf den gesamten Ionenaustauscherschlauch nach verschieden häufiger Benutzung
 4maliger Benutzung
 6 " "
 8 " "

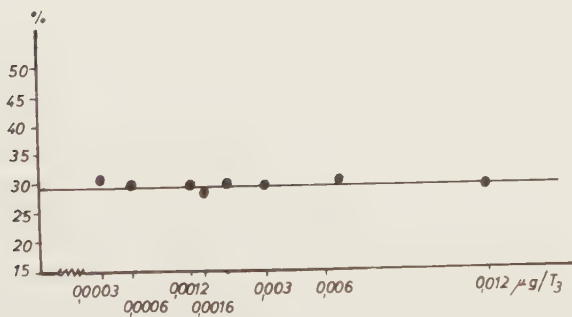


Abb. 6 Abhängigkeit des Signette- T_3 -Tests von verschiedener $^{131}\text{J}-\text{T}_3$ -Konzentration in μg bei jeweils gleichem Flüssigkeitsvolumen und gepooltem Serum

Abhängigkeit vom Flüssigkeitsvolumen bei gleicher T_3 -Konzentration.

Wurde bei normaler T_3 -Konzentration das Flüssigkeitsvolumen von 0,1 ml auf 0,2 ml (also Verhältnis von 0,3 ml Serum : 0,2 ml T_3) verändert, so verschoben sich die Werte von euthyreotem Serum weit in den hyperthyreoten Bereich. Exakte Untersuchungen wurden nicht weiter angestellt.

Abhängigkeit vom Alter der T_3 -Lösung.

Zunächst fanden wir bei unseren Euthyreoten keine Normalverteilung, sondern eine gleichmäßige, wenn auch scharf begrenzte Verteilung von 20-28%. Uns fiel auf, daß die Werte von den Euthyreoten nach Gebrauch einer 14 Tage alten T_3 -Lösung erheblich über denen lag, die mit einer frisch angesetzten T_3 -Lösung durchgeführt wurden. Das veranlaßte uns, eine Korrekturkurve aufzustellen. Die resultierende Kurve zeigt deutlich, daß das Alter der T_3 -Lösung eine signifikante Rolle spielt. Deshalb korrigierten wir alle Werte je nach Alter der T_3 -Lösung, bezogen auf den Wert des zweiten Tages als Ausgangswert, dem frühesten Zeitpunkt, an dem uns die T_3 -Lösung zur Verfügung steht. (S.Tab.3)

Alter der Lösung	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
---------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----

Korrektur- abzug	0	-0,9	-1,6	-2,2	-2,6	-2,9	-3,1	-3,3	-3,4	-3,6	-3,6
---------------------	---	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Tab. 3 Korrekturabzug für das jeweilige Alter der T_3 -Lösung.

Dazu wurden die Ergebnisse der Euthyreoten für jeden Tag der Alterung unserer T_3 -Lösung zusammengefaßt und die Mittelwerte mit Streuung berechnet (Abb. 7 S. 18). Danach zeigten unsere Euthyreoten eine scharfe Gaußverteilung (Abb. 8 S. 18). Der Mittelwert der Gesamt-Euthyreoten stimmt bis auf 1/100 mit dem Mittelwert der Euthyreoten des zweiten Tages überein.

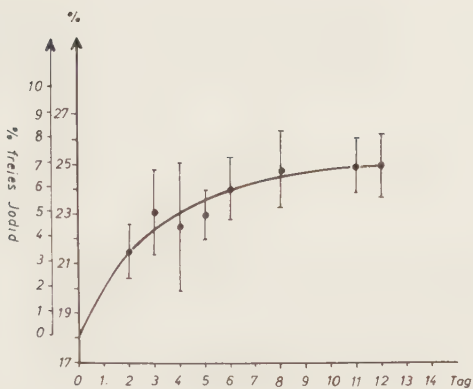


Abb. 7 Mittelwerte und 2σ -Grenzen des Signette- T_3 -tests bei Euthyreosen in Abhängigkeit vom tatsächlichen Alter der ^{131}J - T_3 -Lösung.

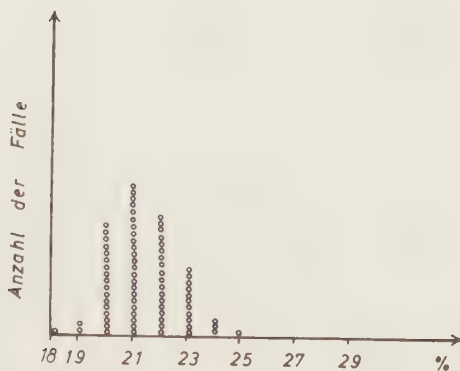


Abb. 8 Verteilung der Euthyreosen im Signette- T_3 -Test nach Korrektur auf Alter der Testlösung.

Krankengut:

Die Mehrzahl der Untersuchungen wurde an Patienten durchgeführt, die zur Routine-Schilddrüsendiagnostik unserem Institut überwiesen wurden. Zur Differentialdiagnostik wurden folgende Befunde mit herangezogen:

1. Vegetative Anamnese
2. Inspektion sowie die physikalischen Befunde (Ruhepuls, Blutdruck)
3. Lokale Palpation
4. Radiojodaufnahmewerte nach 2, 7, 24, 48 Stunden
5. Die Werte über der Leber in gleichen Zeitabständen
6. Das zur Zeit des Speichermaximums geschriebene Szintigramm
7. Der 48-Stunden-Serumwert
8. Das $PB^{131}J$ nach 48 Stunden (Trichloressigsäurefällung)
9. Soweit vorhanden, Laboruntersuchungen wie Grundumsatz
Serumcholesterin, Stickstoff- und Kreatininausscheidung.

An Hand dieser Kriterien wurden 259 Patienten den Gruppen Hyper-, Eu- oder Hypothyreose zugeordnet.

Die zahlenmäßige Darstellung des Krankengutes bei den verschiedenen Testen zeigt Tab. 1:

Status	Hamolsky	Woldring	Sephadex	Signette
Euthyreose	154	22	110	78
Hyperthyreose	65	12	47	30
Hypothyreose	5	2	8	1
Gesamt	224	36	165	109

Dabei wurden bei den meisten Patienten gleichzeitig verschiedene Tests durchgeführt (teilweise bis zu 3).

Darüber hinaus wurden ausschließlich mit dem Signette- T_3 -Test zwei weitere Patienten der Universitäts-Nervenlinik mit einem Hypophysentumor und 77 Patientinnen meist während einer Schwangerschaft aus der Poliklinik der Universitäts-Frauenklinik untersucht. Schließlich wurden 9 gesunde männliche Freiwillige im

Alter von 21 - 22 Jahren zur Gewinnung von Normalwerten herangezogen.

Klinische Ergebnisse:

Um die klinische Brauchbarkeit der einzelnen Teste mit objektivem Maß zu messen, war für uns die Diagnose, die mit Hilfe des klinischen Bildes, der vorhandenen Laboruntersuchungen und des Radiojod-2-Phasen-Studiums gestellt wurde, verbindlich. Dabei waren wir uns bewußt, daß wir hiermit keine absolute Gewähr für eine richtig gestellte Diagnose geschaffen hatten. Einzelne Untersucher räumen z.B. dem Radiojod-2-Phasen-Test eine Treffsicherheit zwischen 80-90% ein, andere weniger. (HORST 1960, KLEIN 1960, BANSI 1961)

Die Mittelwerte der so gebildeten Krankheitsgruppen haben wir mit den doppelten Standard-Abweichungen für die einzelnen Teste in den Abb. 9, 10, 11, 12, S. 21 u. 22 und Tabelle 4 gegenübergestellt. Hierbei sehen wir, daß die Krankheitsgruppen der Hypo- und der Hyperthyreosen für den Sephadex- und WOLDRING-Test sowohl in der Lage der Mittelwerte als auch mit ihren doppelten Standard-Abweichungen im Bereich der Euthyreosen liegen. Nahezu dieselben Verhältnisse treffen für die Hypothyreosen bei HAMOLSKY zu. Lediglich der Mittelwert der Hyperthyreosen liegt ausserhalb des 2 σ -Bereiches der Euthyreosen, wobei sich aber beide Gruppen weit überlappen. Beim Signette-Test liegen die Mittelwerte der Euthyreosen und der Hyperthyreosen nicht nur weit auseinander, sondern auch ihre 2 σ -Bereiche sind scharf von einander getrennt. Im Falle der Hypothyreosen wurde wegen der geringen Fallzahl keine 2 σ -Bereiche bestimmt.

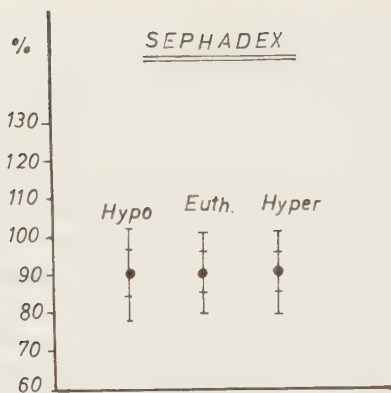


Abb. 9 Mittelwerte und 2 σ -Grenzen der verschiedenen Gruppen beim Sephadex-Test.

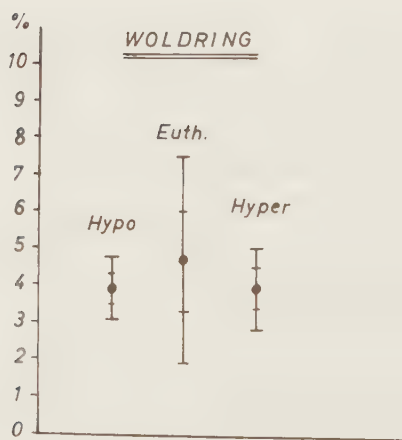


Abb. 10 Mittelwerte und 2 σ -Grenzen der verschiedenen Gruppen beim WOLDRING-Test.

Hyperthyreosen

Nr. des Krb1.	¹³¹ J-Aufnahme				48 h PB ¹³¹ J		Signette- T ₃ -Test	EAT- Test
	2 h	7 h	24 h	48 h	S-Wert			
597	41	63	66	72	1,53	1,44	33%	26,7%
602	26	49	57	47	1,09	0,96	36%	24,3%
600	15	63	75	70	0,67	0,61	29%	16,5%
598	72	85	86	83	0,3	—	30%	19,4%
608	67	69	67	56	1,5	1,3	31%	19,1%
606	—	—	—	—	0,68	0,64	38%	17,7%
615	32	52	49	36	1,02	1,01	30%	20,7%
637	59	69	68	67	0,92	0,86	33%	21,9%
636	79	83	73	60	0,97	0,87	45%	22,1%
646	83	82	55	57	2,28	2,18	32%	28,4%
649	44	65	70	71	0,32	0,30	27%	17,4%
639	35	55	67	65	1,84	1,70	32%	16,8%
647	27	40	48	47	0,71	0,69	30%	17,2%
644	55	82	96	89	5,69	4,69	29%	17,4%
657	36	49	55	53	0,96	0,95	34%	14,5%
660	28	53	47	66	0,58	0,55	36%	—
661	49	63	72	75	0,40	0,38	33%	21,7%
672	32	45	37	20	2,80	2,80	34%	—
698	35	56	59	50	1,85	1,69	31%	20,5%
674	43	70	77	74	0,86	0,81	31%	23,1%

Euthyreosen

591	9	11	14	16	0,08	0,07	23%	17,0%
592	45	67	78	78	0,08	0,05	22%	14,3%
595	9	15	23	23	0,11	0,08	21%	17,3%
594	54	68	71	69	0,03	0,01	23%	14,7%
596	54	82	84	78	0,31	0,29	24%	17,6%
599	30	51	65	67	0,09	0,07	16%	15,7%
603	21	44	55	62	0,06	0,06	22%	16,0%
607	39	54	62	60	0,19	0,12	22%	14,4%
635	15	31	46	46	0,04	0,03	22%	17,0%
634	18	38	55	55	0,06	0,05	23%	16,6%
638	67	84	87	81	0,18	0,16	23%	15,1%
640	61	59	67	67	0,20	0,12	21%	15,1%
641	61	75	75	80	0,29	0,27	20%	15,4%

Euthyreosen (Fortsetzung)

Nr. des Krb. l.	¹³¹ J-Aufnahme				48 h S-Wert	PB ¹³¹ J	Signette- T ₃ -Test	EAT- Test
	2 h	7 h	24 h	48 h				
642	39	67	71	71	0,17	0,13	20%	16,3%
643	47	64	76	76	0,11	0,09	23%	18,7%
645	16	31	42	45	0,04	0,04	20%	15,3%
650	33	50	62	60	0,08	0,07	22%	16,9%
652	46	58	68	70	0,12	0,12	21%	15,1%
653	59	77	82	80	0,22	0,18	23%	14,9%
654	23	38	61	63	0,16	0,14	21%	14,4%
656	42	60	64	64	0,25	0,25	21%	17,0%
655	42	63	78	79	0,09	0,09	20%	15,9%
659	71	74	78	78	0,02	0,02	24%	12,5%
662	30	38	61	61	0,09	0,09	25%	-
674	36	61	72	69	0,10	0,10	22%	16,3%
675	22	37	56	56	-	-	21%	15,6%
677	18	31	40	40	0,19	0,19	20%	17,2%
678	37	68	78	78	0,10	0,05	20%	16,4%
679	30	63	72	73	0,14	0,08	20%	16,0%
680	28	47	65	66	0,04	0,04	24%	15,3%
681	43	66	75	78	0,09	0,09	23%	17,0%
682	35	56	75	77	0,13	0,11	21%	16,1%
684	38	59	66	79	0,04	0,04	21%	15,8%
685	10	20	32	32	0,01	0,01	21%	18,1%
686	38	61	70	73	0,09	0,08	22%	15,9%
689	74	88	97	99	0,26	0,24	24%	16,8%

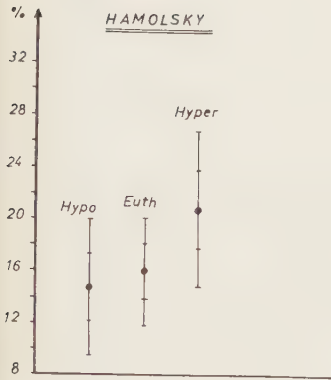
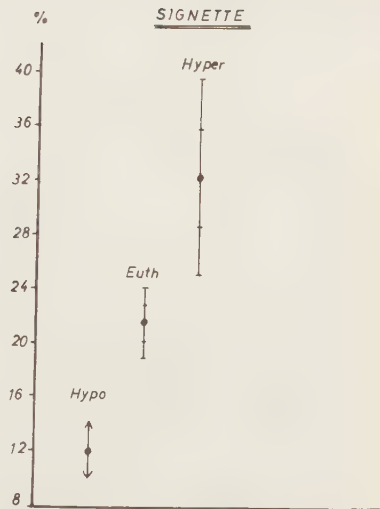


Abb. 11 Mittelwerte und 2σ -
Grenzen der verschiedenen
Gruppen beim HAMOLSKY-Test.

Abb. 12 Mittelwerte und 2σ -
Grenzen der verschiede-
nen Gruppen beim
Signette-T₃-Test.

(Da die beiden sekun-
dären Hypothyreosen
bei 12% liegen, konn-
te in dieser Gruppe
keine Streuung
berechnet werden.)



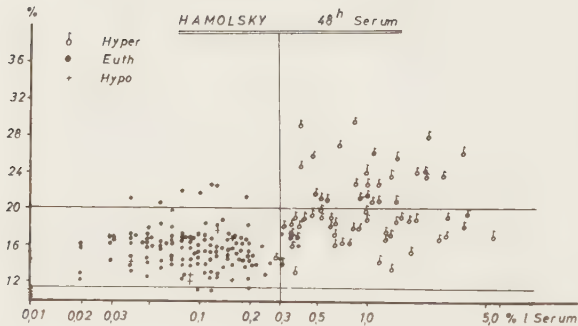


Abb. 13 Vergleich des HAMOLSKY-Tests mit dem 48-Stunden-Serumwert.
Abszisse: Serumjod in %/l Serum, Normalbereich abgegrenzt.
Ordinate: HAMOLSKY-Test 2 σ -Grenze des Normbereiches abgegrenzt.

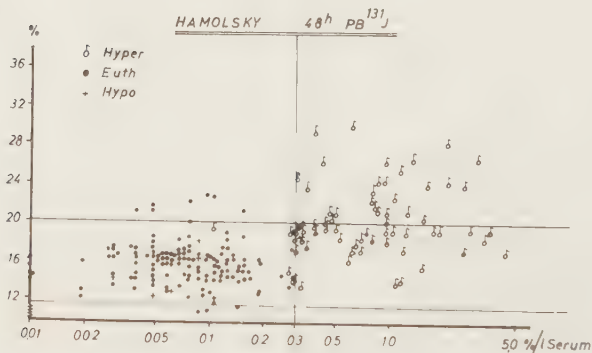


Abb. 14 Vergleich des HAMOLSKY-Tests mit dem 48-Stunden-PB¹³¹J-Wert. (Koordinaten wie oben.)

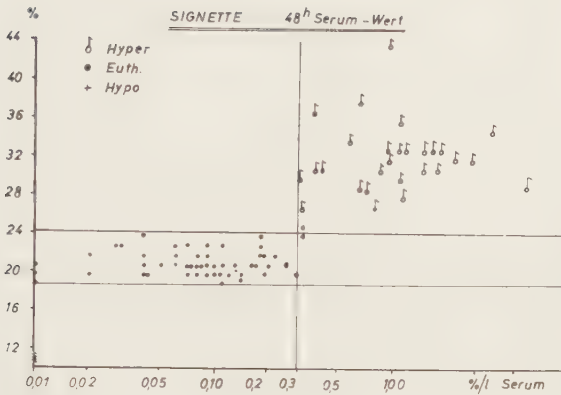


Abb. 15 Ergebnisse des Signette-T₃-Tests in
Abhängigkeit zum 48-Stunden-Serumwert.
Abszisse: Serumjod in %/l Serum, Normbereich abgegrenzt.
Ordinate: Signette-T₃-Test, 2 G-Grenze des Normbereichs
abgegrenzt.

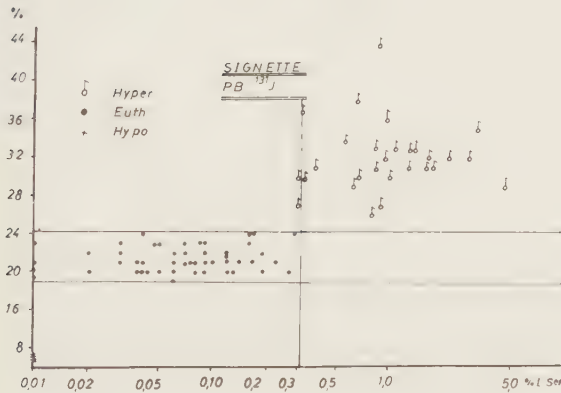


Abb. 16 Ergebnisse des Signette-T₃-Tests in
Abhängigkeit zum PB¹³¹J - Wert
(Koordinaten wie oben).

Werte für die einzelnen Funktionszustände beim HAMOLSKY-Test und Signette- T_3 -Test (Tab. 4)

Diagnose	HAMOLSKY-Test	Signette- T_3 -Test
Euthyreosen	15,9%	21,4%
Standardabweichung	$\pm$ 2,14%	$\pm$ 1,32%
Hyperthyreosen	20,1%	24,1%
mit 95% Sicherheit obere 2 σ -Grenze		
mit 99% Sicherheit obere 3 σ -Grenze	22,2%	25,4%
Hypothyreose oder Schwangerschaft		
mit 95% Sicherheit untere 2 σ -Grenze	11,7%	18,8%
mit 99% Sicherheit untere 3 σ -Grenze	9,6%	17,5%

In den Abb. 13, 14, 15, 16 S. 23 u.24 wurden die Werte des HAMOLSKY- und Signette-Testes den 48-Stunden-Serumwerten und den 48-Stunden-PB¹³¹J-Werten gegenübergestellt. Dabei sehen wir, daß der HAMOLSKY-Test eine größere Überlappung zwischen den verschiedenen Gruppen aufweist als der 48-Stunden-Serumwert oder das 48-Stunden-PB¹³¹J. Dagegen ergibt der Signette- T_3 -Test eine bessere Trennung als die Serumwerte, was um so bemerkenswerter ist, da ja die Serumwerte als organische Phase des 2-Phasen-Radiojod-Testes zur Einteilung der Fälle in die verschiedenen Gruppen mit beigetragen haben.

Wir haben mit dem Signette- T_3 -Test einen geringen Unterschied im Durchschnittswert zwischen männlichen und weiblichen Euthyreoten feststellen können, ihn aber wegen des kleinen Krankengutes statistisch nicht sichern können. Aus demselben Grunde haben wir auf eine Unterteilung der verschiedenen

Altersgruppen verzichtet. - Der Mittelwert der 9 gesunden männlichen Freiwilligen stimmt mit dem Mittelwert der bei uns ambulant untersuchten Euthyreoten überein. (Abb.17 S.27)

Euthyreosen (weiblich)	21,3%
Euthyreosen (männlich)	21,6%
Gesunde Freiwillige	21,8%

Tragen wir nun die Ergebnisse für die Schwangeren in Abhängigkeit der Gestationsdauer auf, so stellt sich eine Punktwolke mit einem steilen Abfall bis zur 20. Woche dar, der in einen flacheren bis zur 40. Woche übergeht (Abb. 18 S. 27). Es ist zu betonen, daß bereits in der 5. Schwangerschaftswoche Werte unter dem 2 β -Bereich der Euthyreosen gefunden wurden und daß die Ergebnisse ab der 10. Schwangerschaftswoche stets unter der 2 β -Grenze liegen (Bei den bisher vorliegenden sogar unter der 3 β -Grenze).

Eine besondere Betrachtung verdienen die Untersuchungsergebnisse bei den Aborten verschiedener Genese (s. Tabelle 5).

Die beiden Hypophysentumoren, die mit dem Signette-Test untersucht wurden und eindeutig im Bereich der Hypothyreosen liegen, wurden in Abb. 12 S. 22 berücksichtigt. In einem Fall ergab HAMOLSKY mit 15,9% einen euthyreoten Wert.

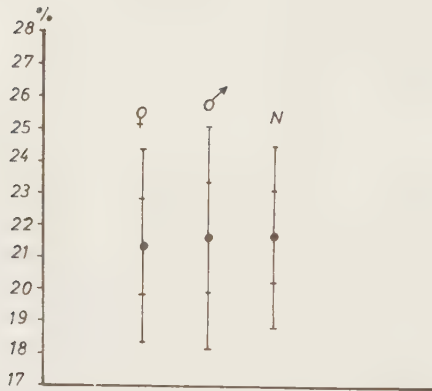


Abb. 17 Mittelwerte und 2 σ -Grenzen des Signette-T₃-Testes der Euthyreosen, nach Geschlecht getrennt und gesunder männlicher Normalpersonen.

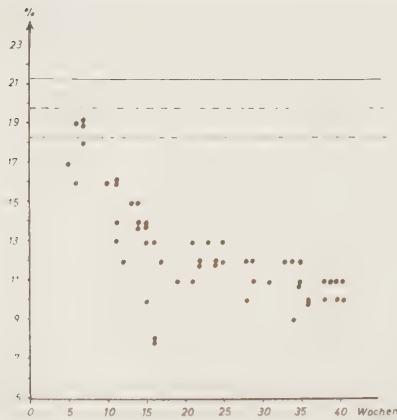


Abb 18 Ergebnisse des Signette-T₃-Testes bei Graviden in Abhängigkeit von der Gestationsdauer.

Tab. 11

Diagnose	Klinik	Pregnosticon	Signette
Frühgravidität M I - II	1. Sü +	1. +	1. 16% +
	2. Re +	2. +	2. 19% -
	3. Bo +	3. +	3. 17% +
	4. Pr +	4. +	4. 19% -
	5. Se +	5. +	5. 17% -
	6. Ma +	6. +	6. 17% +
Abort im. bis M II	1. Ma (dysfunkt. Blutg.? BST am 45. Tag gravid)	1. -	1. 17% +
	2. Ma +	2. +	2. 20% -
Abort im. M II - VI	1. La M V +	1. fehlt	1. 21% -
	2. Hi M VI +	2. -	2. 20% -
Abort incompl. MIV	1. Bö (seit 4 Wochen)	1. fehlt	1. 23% -
Zustand nach Abort	1. Kü M II	1. -	1. 16% +
	2. Lu M II (dys- funkt. Blutg.?)	2. -	2. 20% -
	3. Ge M II	3. +	3. 21% -
	4. Ho M III (s.5 Wochen Blutg.)	4. fehlt	4. 23% -
	5. Re M V (missed Abort.)	5. fehlt	5. 17% +
	6. Ha M IV	6. -	6. 17% +

5. und 6. nicht
der Amenorrhoe-
dauer entsprechend

Gegenüberstellung der klinischen Untersuchung, des Pregnosticon- und Signette-T₃-Tests bei Schwangeren in der Frühgravidität und bei krankhaften Störungen des Schwangerschaftsverlaufes.

Untersuchungsergebnis für Gravidität +

" gegen "

Die Patienten sind mit einem Kürzel aus zwei Buchstaben gekennzeichnet.

Diskussion

Unter einem in-vitro-Test ganz allgemein verstehen wir ein Verfahren zur Diagnosestellung, wobei der Patient dem Untersuchungsverfahren nicht direkt ausgesetzt wird. Er liefert lediglich den biologischen Untersuchungsstoff wie Blut oder Urin. Ist sein biologisches Untersuchungsmaterial erst einmal gewonnen, kann es auf den verschiedenen technischen Wegen, z.B. durch Post, den zuständigen Labors zur Aufarbeitung zugestellt werden.

Der in-vitro-Test erlangt besondere Bedeutung, wenn er als Screeningmethode verwendet werden kann, d.h. wenn er in Form von Routineuntersuchungen einen hohen Grad an Treffsicherheit für einen spezifisch krankhaften Befund beweist. In unserem Falle wird durch die in-vitro-Teste noch zusätzlich eine Strahlenbelastung des Patienten vermieden, was für die Gynäkologie (Schwangere) und die Pädiatrie von erheblicher Bedeutung ist.

In den letzten Jahren wurden mehrere in-vitro-Teste für die Schilddrüsendiagnostik entwickelt. Das zeigt schon, daß es den Idealtest, der allen Wünschen des Klinikers gerecht wird, noch nicht gibt.

Welche Anforderungen werden an einen in-vitro-Test gestellt?

1. Er muß spezifisch sein, d.h. seine Aussage muß sich speziell auf den Untersuchungszweck beziehen, was besonders für die Routineuntersuchung wichtig ist.
2. Er muß sich durch eine hohe Treffsicherheit auszeichnen. Nicht nur in ausgeprägten Fällen von extremen Schilddrüsen-dysfunktionen, sondern auch bei den sogenannten Grenzfällen muß er hinreichend verlässlich sein.

3. Das biologische Material, das zur Untersuchung gelangen soll, muß leicht zu gewinnen sein. Urin und Speichel kommen als Untersuchungssubstanz nicht in Frage, weil sie eine vorangegangene Inkorporierung radioaktiver Stoffe voraussetzen. Es bleibt also das Blut, das bei den einzelnen Methoden in verschiedener Form Verwendung findet.

4. Er muß von biologischen und methodischen Faktoren weitgehend unabhängig sein.

Zwar haben die meisten Teste unter geschaffenen Idealbedingungen eine hohe Treffsicherheit. Doch im Routinebetrieb sind sie von so vielen exogenen und endogenen Störfaktoren abhängig, daß sie nur bedingte Brauchbarkeit erlangen. Deshalb müssen sich in-vivo-Methoden, die mehr die Dynamik des Jodstoffwechsels wiedergeben und in-vitro-Teste, die eine Aussage über die Hormonjodkonzentration im Serum versuchen, in sinnvoller Weise ergänzen.

Verschiedene Methoden zur Untersuchung der Schilddrüsenfunktion.

A. Nicht nuklearmedizinische Methoden.

I. Bestimmung des Cholesterinspiegels im Blut. Ein Verfahren, das sehr unspezifisch ist, eine niedrige Treffsicherheit hat und eine große Fehlerbreite besitzt. Für die Diagnose ist sie nur von geringem Wert. (v.VIGIER 1964, HULLMANN 1965)

II. Grundumsatzbestimmung: Diese Untersuchungsmethode wird noch heute an vielen Kliniken ohne Radiojoddagnostik geübt. Die Ergebnisse sind nur begrenzt verwertbar. Zu viele extrathyreoidale Störungen können den Sauerstoffverbrauch des Organismus verändern, obwohl durch Sedativa versucht wird, die Fehler auf ein Minimum herabzudrücken. Meistens sind bis zu 4 Bestimmungen notwendig, bis ein annähernd brauchbarer Wert erzielt wird. So weist v. VIGIER (1964) besonders auf die Häufigkeit der falsch positiven Resultate im hyperthyreoten Bereich hin (LEONHARDT 1953, HÖFER u. VETTER 1958).

III. Chemische Bestimmung der Blutjodfraktion: Zur Bestimmung des Totaljodes im Serum werden verschiedene Verfahren angegeben.

- a) Trockene alkalische Veraschung (BARKER u. HUMPHRY 1950)
- b) Saure offene Veraschung (ZAK et al. 1952, 1953)
- c) Saure offene Verbrennung (CHANEY 1940, CHAIKOFF 1946, KLEIN 1952).

Dies läßt aber noch keinen Rückschluß auf den Anteil des Hormonjods zu. Durch Zugabe von Trichloressigsäure kann das sogenannte Hormonjod als Sediment ausgefällt werden. Man bezeichnet es als PBI (Protein Bound Iodine) und wertet es als ein direktes Maß für den T_4 -Gehalt. Außerdem ist eine Isolierung des PBI durch Entfernung des Jodidions mit Ionenaustauschern möglich. Die jodhaltigen Thyronine (THYROXIN und Trijodthyronin) können auch durch Extraktion mit n-Butanol erfaßt werden. Sie werden deshalb als BEI-Komplex (Butanol Extractable Iodine) bezeichnet. Für die Schilddrüsendifferentialdiagnostik sind diese Methoden wegen ihrer hohen Treffsicherheit sicherlich wertvoll. (STARR et al. 1950. KLEIN 1952/53, BROWN u. PAGE 1954, KLEIN u. BRÜGEL 1955). Kritisch gesehen sind sie jedoch umständlich, materialaufwendig, zudem sehr fehleranfällig bei Jodüberladung des Organismus. Sie bleiben nur wenigen großen Kliniken vorbehalten.

B. Untersuchungsmethoden, die eine ^{131}J -Inkorporierung voraussetzen.

I. Radiojod-2-Phasen-Studium

Nach einer entsprechenden Spürdosis wird a) die Jodakkumulation über der Schilddrüse in den Zeitabständen 2, 7, 24 und 48 Stunden, b) die Leberaktivität im gleichen Zeitraster und c) der intrathyreoidale Jodumsatz nach 48 Stunden im Serum erfaßt. Dieses Verfahren informiert also über den dynamischen Jodstoffwechsel. Als in-vivo-Methode ist es von relativ hohem diagnostischem Wert. Manche Autoren geben eine Treffsicherheit von 80-90% an, andere wiederum liegen darunter (HORST 1960, BANSI 1961, KLEIN 1960, SCHNEIDER 1965). Nach den Erfahrungen unseres Institutes ist eine Annahme von 80-90% als Trefferrate durchaus gerechtfertigt, wenn Patienten mit möglichen Fehlerquellen von

vornherein aus der Untersuchung ausgeschlossen werden. Wegen der Inkorporierung von radioaktiven Substanzen eignet sich der Test nicht zu Untersuchungen von Schwangeren und von Kindern. Ein weiterer Nachteil des Radiojod-in-vivo-Tests liegt darin, daß nach Verabreichung von Thyreostatika das Testergebnis über einen langen Zeitraum gestört ist. Das ist besonders auch nach Gabe von Jod oder jodhaltigen Röntgen-Kontrastmitteln der Fall.

C. $^{131}\text{J} - \text{T}_3$ - Untersuchungen ohne Inkorporation.

Die ^{131}J -in-vitro-Tests werden durch eine jodhaltige Vormedikation nicht beeinflusst, soweit sie die Schilddrüsenfunktion nicht verändern. Dafür sind sie von anderen Faktoren abhängig, die noch später ausführlicher behandelt werden. Hier soll noch einmal betont werden, daß sich in-vitro-Methoden dadurch sinnvoll ergänzen können, daß nicht nur meist ein Test eine sichere Aussage trotz widriger Umstände gewährleistet, sondern auch erkannt werden kann, welcher Test dem fehlerhaften Einfluß ausgesetzt ist.

Es sollen drei weitere in-vitro-Teste erwähnt werden, die ebenfalls eine Abhängigkeit von der Schilddrüsenfunktion aufzeigen, aber in ihrer klinischen Bedeutung und Brauchbarkeit von uns nicht überprüft wurden.

1. Dialyseverfahren nach CHRISTENSEN und MITCHELL (1960). Hier wird freies und proteingebundenes T_4 , das dem Plasma zugesetzt wird, mittels Dialyse von einander getrennt. Dabei kommt es zu störenden Adsorptionen an der Dialysemembran, was den Wert dieser Methode zweifellos herabsetzt. Unklar bleibt, wie weit Proteinveränderungen während der 22stündigen Dialyse eintreten. Zudem erscheint uns dieses Verfahren zu umständlich und aufwendig, um als Routinetest in Frage zu kommen. Nach CAVALLIERI et al. (1965) hat diese Methode eine bessere Treffsicherheit als der EAT nach HAMOLSKY.

2. MITCHELL und Mitarbeiter (1959) verwendeten anstelle des gekörnten Austauscherharzes einen Schwamm, bestehend aus Polyurethanschäum und fein verteiltem Anionenaustauscherharz (Amberlite IRA-400), wodurch sie methodische Erleichterungen beim Waschvorgang erzielten. Sie kamen zu den gleichen Ergebnissen wie mit den gekörnten Austauschern.

3. Schließlich ist noch die Papier- und Überwanderungselektrophorese nach HOFFMANN u. CREDNER (1957) zu erwähnen, die das Maß der Bindung von exogen zugeführtem $^{131}\text{J} - \text{T}_4$ an das im inter- α - Bereich wandernde TBG in Abhängigkeit von der Bindung an das β -Globulin bestimmen, also den Funktionsfaktor nach

$$\frac{\text{TBG - gebundenes Thyroxin}}{\beta\text{-Globulin gebundenes Thyroxin}} = F$$

ermitteln. Da Untersuchungen gezeigt haben, daß Thyroxin eine große Affinität zur inter- α -Fraktion und zum Präalbumin besitzt, aber nur eine ganz geringe zum β -Globulin, bleibt unklar, ob die Bindung an das β -Globulin in einem konstanten Verhältnis zur T_4 -Konzentration im Serum erfolgt. Alle Elektrophorese-Methoden sind ausserordentlich zeit- und arbeitsauswendig und haben zumeist eine unbefriedigende Treffsicherheit.

Welche Bedingungen müssen die T_3 -in-vitro-Teste als Routineteste erfüllen?

1. Treffsicherheit (Dazu vergleichen wir die durchgeführten in-vitro-Teste sowohl untereinander als auch mit den anderen Untersuchungsergebnissen).
2. Die Ergebnisse sollen schnell verfügbar sein.
3. Der Test soll wenig arbeitsintensiv, von geringem Zeit- und Arbeitsaufwand sein.
4. Der Test soll methodisch einfach sein, unabhängig von methodischen und biologischen Einflüssen.
5. Der Test soll mit wenig biologischem Untersuchungsstoff auskommen.

6. Der Test soll wirtschaftlich sein.

Im Laufe der weiteren Ausführungen sollen die einzelnen Tests anhand dieser Kriterien auf ihre klinische Brauchbarkeit überprüft werden.

I. HAMOLSKY-Test:

Einige Autoren berichten von einer hohen diagnostischen Treffsicherheit für den EAT, die unserer Meinung nach nur dadurch zu erklären ist, daß eine Vorauswahl des Krankengutes und eine Aussonderung der Fälle vorgenommen wurde. In der Routineuntersuchung, wie in unserem Falle, hat er sich nur mäßig bewährt. Bei der Gruppe der Euthyreoten finden wir eine Rate von falsch positiven Hyperthyreosen von 5,6%, eine Rate von falsch positiven Hypothyreosen von 1,6%. Bei den Hyperthyreosen haben wir 39% falsch negative Ergebnisse, während bei den Hypothyreosen die Werte zu 100% falsch sind. Die in der Abb. 11 S. 23 angeführten falsch positiven Hypothyreosen sind, so glauben wir, nach der Korrektur mit dem Hämatokritwert zustande gekommen. Im allgemeinen liegen die wahren Aufnahmewerte der Erythrozyten zwischen 4 und 10%. Der Spielraum zur Differenzierung der einzelnen Krankheitsgruppen ist damit sehr begrenzt.

Ad 2. Der Test ist zweifellos sehr zeitaufwendig. Erst nach 150 Minuten steht das erste Ergebnis zur Verfügung. Simultan lassen sich bei unseren Möglichkeiten 10 Tests durchführen, die 3,5 Stunden dauern würden (S. Abb. 21 S. 35).

Ad 3. Wegen der langen Inkubationsdauer von 2 Stunden erscheint der Test im ersten Moment wenig arbeitsintensiv. Diese Zeit wird aber zur doppelten Bestimmung des Hämatokritwertes genutzt. Zweitens werden für den weiteren zügigen Ablauf des Tests die notwendigen Gläser bereitgestellt und entsprechend nummeriert; dazu gehören auch die erforderlichen Pipetten. Nach der Inkubation muß das Erythrozytensediment sofort aufgearbeitet werden. Das genaue Einhalten der Arbeitsbedingungen erfordert schließlich doch eine hohe Arbeitsintensität.

Ad 4. Während HAMOLSKY und Mitarbeiter (1957) diesen Test als eine einfache, leicht zu handhabende Methode schildern, weisen GRAUL et al. (1962) darauf hin, daß die Versuchsbedingungen genau eingehalten werden müssen:

- a) Es darf die Inkubationszeit von 2 Stunden und die Inkubationstemperatur von 37°C nicht verändert werden. Während dieser Zeit müssen die Kölbchen verschlossen sein, sonst geht zu viel CO_2 verloren. CO_2 -Verlust bedeutet verminderte T_3 -Adsorption der Erythrozyten.
- b) Menge und Art der Waschflüssigkeit müssen konstant gehalten werden.
- c) Die Zahl der Waschungen muß konstant sein. Während bis zur 3. Waschung noch ein höherer Abfall zu registrieren ist, erfolgt mit jeder weiteren ein Verlust von 5-7%. (FRIIS 1960)
- d) Die Aufarbeitung der Erythrozyten muß ohne Verzug erfolgen, da sie bei Zimmertemperatur das T_3 in steigendem Maße verlieren.
- e) Schließlich sollten Intensität und Dauer des Zentrifugierens exakt eingehalten werden.
- f) Die Bearbeitung des Vollblutes soll noch am gleichen Tage erfolgen. GEORGIE et al. 1965 teilten mit, daß 8 Tage altes bei $+3^{\circ}\text{C}$ aufbewahrtes Blut verdoppelte Erythrozytenaufnahme-werte zeigte.
- g) Ein besonderer Unsicherheitsfaktor für die Berechnung der T_3 -Aufnahme stellt die Hämatokritkorrektur dar. KEIDERLING (1962) konnte nachweisen, daß eine direkte Proportionalität zwischen T_3 -Aufnahme der Erythrozyten und dem Hämatokritwert garnicht besteht. Deshalb wurde von einigen Autoren andere Berechnungsverfahren vorgeschlagen (ADAMS 1960, CHRISTENSEN 1960). Die Ermittlung des Bindungskoeffizienten, wie ihn ADAMS vorschlägt, bringt nach Untersuchungen von WALFISH (1961) und GRAUL et al. (1962) keine wesentlichen Verbesserungen.

Durch criss-cross-Versuche mit Plasma von Hyperthyreosen und Erythrozyten von Euthyreosen und umgekehrt konnte FRIIS (1960) zeigen, daß die Testergebnisse nicht von den Erythrozyten, sondern von der Plasma-Eiweißbeschaffenheit abhängig sind.

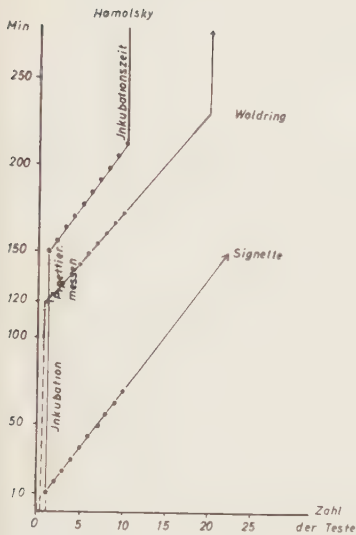


Abb. 19 Gegenüberstellung des Zeitbedarfs vom HAMOLSKY-WOLDRING- und Signette- T_3 -Test. Der Sephadex-Test konnte wegen seines zu großen Zeitbedarfs im gewählten Maßstab nicht berücksichtigt werden.

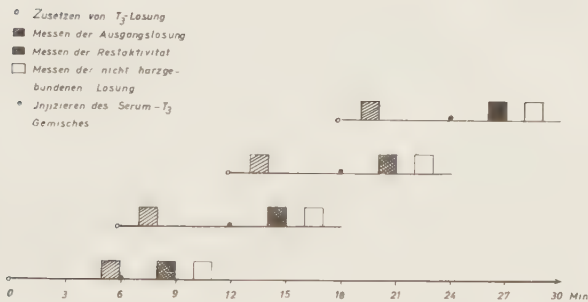


Abb. 20 Zeitlicher und rhythmischer Arbeitsablauf beim Signette- T_3 -Test.

Die Erythrozyten im EAT sind nur unspezifische Akzeptoren für nicht eiweißgebundenes T_3 . Das exogen zugesetzte T_3 oder T_4 wird von den Erythrozyten nicht inkorporiert (HOGNESS 1957). Es erfolgt lediglich eine Adsorption an der Erythrozytenmembran.

Ad 5. An Untersuchungsstoff sind mindestens 6 ml Vollblut notwendig, somit erheblich mehr als bei den Ionenaustauschertesten, aber immerhin noch etwas weniger als beim Sephadextest.

Ad 6. Bezüglich des Verbrauchsmaterials ist der EAT zweifelsohne der billigste und auch wirtschaftlichste.

Wegen der methodischen Schwierigkeiten und Fehlermöglichkeiten des EAT, Hämolyse der Erythrozyten, ihre Veränderung durch Antikoagulantien und die Abhängigkeit vom Hämatokritwert, ging man dazu über, die Erythrozyten durch Stoffe mit konstanten Eigenschaften zu ersetzen. Ein besonderer Vorteil von Serum als Untersuchungsmaterial ist die praktisch unbegrenzte Lagerfähigkeit im tiefgefrorenem Zustand (-20°C). Verwendung fanden Kationen- wie Anionenaustauscher verschiedener Art. Am gebräuchlichsten sind Amberlite IRA 400, Dowex 2X8, Amberlite CG 50 Typ II geworden. Die in der Literatur angegebenen Methoden unterscheiden sich im Prinzip nur wenig. Wir haben uns ohne triftige Gründe entschlossen, den WOLDRING-Test als den Repräsentant der bisher üblichen Ionenaustauscherteste im Vergleich zu erproben.

II. WOLDRING-Test

Ad 1. Eine Differenzierung zwischen den einzelnen Krankheitsgruppen war uns mit dieser gewählten Versuchsanordnung nicht möglich, die Trefferrate war gleich Null. Die Testreihe wurde

deshalb nach 40 Patienten abgebrochen, nachdem weitere methodische Untersuchungen keine positiven Ergebnisse erwarten ließen.

Ad 2. Der erste Testwert steht frühestens nach 2 Stunden und 15 Minuten zur Verfügung, womit sich diese Methode kaum vom EAT unterscheidet.

Ad 3 und 4. Methodisch ist der Test einfach, wenig arbeitsintensiv und kaum arbeitsaufwendig. Hätte er die gleiche Trefferrate wie der EAT, müßte er ihm schon zweifellos deshalb vorgezogen werden, weil die oben erwähnten Einflüsse auf den EAT wegfallen. Deshalb ist es sehr erstaunlich, daß der HAMOLSKY-Test trotzdem bis heute, von wenigen Ausnahmen abgesehen, gegenüber dem WOLDRING-Test bevorzugt angewendet wird. Das kann natürlich an dem Bestreben liegen, eine standardisierte Methode beizubehalten, wenn eine neue Methode keine wesentlichen Verbesserungen verspricht. Vielleicht aber auch daran, daß Versuche mit dem WOLDRING-Test auch in anderen Labors keinen Erfolg brachten (KALLEE, persönliche Mitteilung). Besonders fällt in diesem Zusammenhang auf, daß praktisch in keiner Mitteilung die Beladung des Ionenaustauschers geschildert wird. Wir haben daraus geschlossen, daß er in der von der Firma gelieferten Form, also im H^+ -Zyklus, Verwendung findet. Das aber hat zur Folge, daß nach Zugabe von NaCl und Serum mit seinem hohen Na^+ -Gehalt praktisch sämtliche H^+ -Ionen freigesetzt werden. Damit findet eine starke Ansäuerung des Gemisches statt, was das Serumeiweiß sicherlich beeinträchtigt. Die Puffereigenschaften des Serums fallen wegen seiner geringen Menge von 0,5 ml kaum ins Gewicht. Die Ionenaustauscher sind natürlich nicht neutral, sondern besitzen eine stärkere Affinität zum $^{131}J - T_3$ als die Serumproteine.

Ad 5 und 6. Der benötigte biologische Untersuchungsstoff ist mit 0,5 ml Serum gering, die Wirtschaftlichkeit überzeugend. In beiden Punkten liegt er an zweiter Stelle des Testvergleichs.

III. Sephadex-Test.

Bei der Methode der Gel-Filtration mit Sephadex war man von der Überlegung ausgegangen, die in-vivo-Verhältnisse auch in-vitro weitgehend nachzuahmen. Sephadex ist ein Dextran-Gel und findet in der Technik der Säulen-Chromatographie Verwendung. Die Dextran-Gele bestehen aus hydrophilen Polysaccharidketten, die untereinander vernetzt sind. In eine Säule gebracht, bilden sie ein Molekularsieb. Substanzen mit großem Molekulargewicht wandern an den Gel-Körnern rasch vorbei und verlassen die Säule zuerst; solche mit kleinem Molekulargewicht dringen in das Maschenwerk ein und werden aufgehalten. Je nach Molekulargröße wandern also die einzelnen Substanzen verschieden schnell und können somit aus einem Gemisch herausdifferenziert werden. Die Angabe des Herstellers, daß das Dextran-Gel frei von aktiven Gruppen ist, muß angezweifelt werden. Denn Untersuchungen in unserem Institut zeigten, daß T_3 aus der Säule nur durch Butanol wieder extrahiert werden kann. Die beiden normalen Elutionsgipfel bestehen aus proteingebundenem T_3 und Jodid (ZEIDLER und GRAUL, unveröffentlichte Ergebnisse).

Ad 1. In unserem Untersuchungsgut von über 200 Patienten (gepoolte Testseren mitgerechnet) haben wir wie beim WOLDRING-Test eine Treffsicherheit gleich Null, da die Gruppen der Hypo- und der Hyperthyreoten im 2 σ -Bereich der Normalen liegen.

Ad 2. Die Erstellung des ersten Testergebnisses dauert unter den zu vergleichenden Testen weitaus am längsten, was durch den Ansatz der Säule und später durch das langwierige Messen

des Eluats bedingt ist. Auch die Durchlaufzeit ist mit ca 1 1/2 Stunden beträchtlich.

Ad 3. Neben dem großen Zeit- und erheblichen Arbeitsaufwand ist der Sephadex-Test noch ausgesprochen arbeitsintensiv. Die ganze Testzeit ist mit Arbeiten ausgefüllt, während bei WOLDRING und zum Teil auch bei HAMOLSKY die Inkubationszeit noch frei für andere Aufgaben ist.

Ad 4. Die Methode ist im Vergleich zu den anderen als schwierig zu bezeichnen. Der Ansatz der Säulen, das Einbringen des Serum-T₃-Gemisches sowie die Durchführung der methodischen Auftrennung der einzelnen Fraktionen erfordern ein Höchstmaß an sauberem und sorgfältigem Arbeiten. Bei der Auswertung des Eluats kann die Auftrennung der beiden Aktivitätsgipfel mit erheblichen Fehlern belastet sein.

Ad 5 und 6. Zur Untersuchung kommen mindestens 2 ml Serum, es werden deshalb für die Inkubation 3 ml Serum benötigt, was eine Vollblutmenge von 10 und mehr ml voraussetzt. Der Sephadex-Test benötigt also die größte Menge biologischen Untersuchungsstoffs und ist im ganzen gesehen am unwirtschaftlichsten.

IV Signette-T₃-Test.

Wie schon erwähnt, handelt es sich bei dem Signette-Schlauch um einen stark basischen Anionenaustauscher, der im Cl⁻-Zyklus vorliegt. Wir suchten nach einer Testmethode, die in ihrem Zeit- und Arbeitsaufwand im Vergleich zu den bisher bekannten erheblich reduziert werden konnte bei mindestens gleicher oder noch besserer Trefferrate. Während bei Methoden von WOLDRING oder MITCHELL das Konzentrationsgefälle und damit die Austauschgeschwindigkeit mit fortschreitender Inkubation zunehmend kleiner wird, liegt bei dem Durchtritt einer kleinen Menge Serum (0,3 ml) durch eine relativ große Menge Austauscherharz

wie in unserem Falle konstant ein normaler Konzentrationsgradient vor. Aus diesem Grund erhalten wir, da durch den Signette-Apparat eine exakte Durchlaufzeit garantiert ist, nach einer Expositionszeit von 45 Sekunden Aufnahmewerte, wie sie die übrigen Austauschere erst nach ein- oder mehrstündiger Exposition aufweisen können. Zudem ist bei diesen Methoden eine lange Expositionszeit geradezu notwendig, weil erst der flache Teil der up-take-Kurven den methodischen Fehler durch unterschiedlich lange Expositionszeiten auf ein tragbares Maß reduziert. Hohe Aufnahmewerte des Harzes sind aber erforderlich, damit ein Test ausreichende Empfindlichkeit im hypothyreoten Bereich besitzt. Mehr noch als unsere Ergebnisse von den beiden sekundären Hypothyreosen demonstrieren unsere Befunde bei den Schwangerschaften diese Tatsache.

Ad 1. Beachten wir methodische Fehlerbestimmungen und unberücksichtigte Medikamentenanamnese nicht, so weist der Signette- T_3 -Test bei den Hyperthyreosen 2 falsch negative Werte und bei den Euthyreosen 4 falsch hyperthyreote Werte auf. Falsch hypothyreote Euthyreosen haben wir nicht beobachtet. Zwei Hypophysentumoren mit sekundärer Hypothyreose konnten mit dem Signette- T_3 -Test im Gegensatz zum EAT klar vom euthyreoten Bereich getrennt werden. Durch Wiederholungsuntersuchungen, gegebenenfalls nach Karenz der störenden Medikamente erzielten wir eine Trefferrate von 100%, d.h. dieselbe Treffsicherheit wie sie der von uns zur Diagnosestellung zugrundegelegte Radiojod-2-Phasen-Test aufweist ! Eine Gegenüberstellung der Ergebnisse vom EAT und Signette- T_3 -Test demonstriert anschaulich, daß der Signette- T_3 -Test die einzelnen Krankheitsgruppen scharf trennt, die sich aber beim EAT breit überlappen. (Abb. 21 S. 47).

Ad 2. Das Ergebnis ist schon nach ca. 10 Minuten verfügbar. Damit steht der Test konkurrenzlos da. Diese Tatsache kann von wichtiger klinischer Bedeutung sein, wie es gerade bei den

beiden sekundären Hypothyreosen im Sinne eines Hypophysentumors der Fall war. Der Allgemeinzustand der beiden Patienten ließ ein 2-Phasen-Radiojod-Studium nicht mehr zu, die Dringlichkeit der Operation verlangte aber eine rasche diagnostische Abklärung. Der Signette- T_3 -Test konnte den klinischen Verdacht eindeutig bestätigen. Operationsbefund und histologische Untersuchung bestätigten die Diagnose eines Hypophysentumors endgültig.

Ad 3. Die Zeit, die man für den Test benötigt, ist voll mit Arbeiten ausgefüllt. Er ist also sehr arbeitsintensiv. Trotzdem hat er den kleinsten Arbeitsaufwand, weil der gesamte Zeitbedarf sehr gering ist. (Abb. 20 S. 37)

Ad 4. Der durch die Laufzeit der Signette festgelegte Arbeitsrhythmus mit seinen dazwischen geschalteten Arbeitsgängen garantiert ein exaktes Einhalten einiger wichtiger Versuchsbedingungen, wodurch die Nachteile der großen Arbeitsintensität reichlich aufgewogen werden. Die große Schwierigkeit bei der Standardisierung einer Methode, die mit so kleinen Serummengen arbeitet, besteht darin, die anfangs gemessene Impulszahl möglichst verlustfrei in die Versuchsanordnung zu bringen bzw. die Restaktivität möglichst vollständig zu erfassen. Dazu haben wir verschiedene Möglichkeiten untersucht, die jedoch alle eine ziemlich große mittlere Streubreite aufwiesen. Allein die Injektionsmethode ergab befriedigende reproduzierbare Ergebnisse. Dringt beim Injizieren also Serum durch die Injektionsstelle nach aussen, muß der Test abgebrochen und die Probe erneut angesetzt werden. Wir haben diese Schwierigkeit so umgangen, daß wir erst dann die Spritze mit der Kanüle aus dem Kupplungsstück herausgezogen haben, nachdem genügend Spülflüssigkeit den Einstich passiert hatte.

a) Inkubationszeit: Wir inkubieren 6 Minuten lang, weil wir diesen Zeitraster durch den Hin- und Rücklauf der Signette

bequem einhalten können. Abb. 2 S. 13 zeigt aber, daß die up-take-Kurve für die Zimmertemperatur erst nach der 5. Minute in ihren flacheren Teil übergeht und nach 15 Minuten einen konstanten Wert erreicht, der bei 37°C schon nach der 5. Minute erreicht wird. Die 6 Minuten Inkubationszeit müssen also genau eingehalten werden, wenn reproduzierbare Werte gewonnen werden sollen.

b) Konstante Serum-Austauscher-Expositionen sowie immer gleiche Mengen Spülflüssigkeit sind schon durch die Anordnung der Signette und durch die strenge Auswahl der Schläuche gegeben.

c) Der Test ist wie alle in-vitro-Teste temperaturabhängig (Abb. 3 S. 14). Wir haben den Test bei verschiedenen Temperaturen erprobt. Dazu wurde die Signette-Vorrichtung in einen Kühlmantel gebracht, der mit Hilfe eines Ultrathermostaten (Colora) von einem Methanol-Wassergemisch durchströmt wurde. Serum- T_3 -Lösung und Spülflüssigkeit wurden den gleichen Temperaturen exponiert. Diese Untersuchungen wurden mehrfach wiederholt, wobei wir das Methanol-Wassergemisch auch durch reines Wasser ersetzten, um etwaige Einflüsse auf den Ionenaustauscherschlauch auszuschliessen. Wir erhielten hierbei die gleichen Ergebnisse. Es ist also wichtig, bei konstanten Temperaturen zu arbeiten bzw. bei abweichenden Temperaturen eine Korrektur durchzuführen. Unsere Arbeitstemperatur lag konstant zwischen 20 und 22°C . Spülflüssigkeit, Serum und $^{131}\text{J-T}_3$ -Lösung müssen vor dem Test natürlich auf Zimmertemperatur gebracht werden, wenn sie eingefroren gelagert waren.

d) Wir beschäftigten uns mit der Frage, ob es sich bei der Reaktion zwischen T_3 und dem Austauscherharz um einen reversiblen dynamischen Vorgang im Sinne eines Ionenaustauschereffektes oder ob es sich doch um eine nahezu irreversible Bindung (z.B. Salzbindung, Adsorption) handelt. Dazu schickten wir durch den Signette-Schlauch nach viermaligem Gebrauch

größere Mengen bidestillierten Wassers oder physiologischer Kochsalzlösung. Eine Veränderung der vorher und nachher gemessenen Gesamtaktivität wurde nicht festgestellt. Das beweist, daß zwischen dem T_3 und dem Austauscherharz eine starke, anscheinend irreversible Bindung besteht. Das wird auch von GOOLDEN (1965) bestätigt. Dagegen verzeichnen wir beim EAT mit jeder weiteren Waschung eine Abnahme um 3-5% (FRILIS 1960).

e) Das Alter der $^{131}T_3$ -Lösung ist für den Signette-Test von besonderer Bedeutung. GRAUL und Mitarbeiter (1962) haben nachgewiesen, daß es mit der Zeit infolge strahlenchemischer Veränderungen zur Bildung von $^{131}J-T_4$, $^{131}J^-$ und elementarem ^{131}I im T_3 -Ansatz kommt, wodurch die Ergebnisse erheblich verändert werden. Diese Erfahrungen sind bisher für die in-vitro-Teste nicht berücksichtigt worden. Wie erwähnt, korrigierten wir alle Werte je nach Alter der T_3 -Lösung (s. Kap. Ergebnisse). Dazu haben wir auf halblogarithmischem Papier unter der Annahme einer exponentiellen Sättigungskurve die Exponentialkonstante in zweifacher Annäherung ermittelt. Die dadurch erhaltene Gleichung

$$Y [\%] = 7,1 [1 - e^{-0,3 [d^{-1}] \cdot t [d]}]$$

folgt befriedigend den gemessenen und errechneten Punkten. Die Gleichung gibt direkt in Prozent das zunehmende Auftreten des abgespaltenen Radiojods an, denn dieses wird unter den angewandten Bedingungen vollständig vom Ionenaustauscher gebunden. Verwendet man, wie es mancherorts aus transporttechnischen Gründen geschieht, die T_3 -Lösung erst eine Woche nach Ansatz der Lösung, erübrigt sich anscheinend jede Korrektur. Durch eine künstliche Alterung bei der Herstellung der Lösung könnten konstante Arbeitsbedingungen geschaffen werden.

f) Eine Abhängigkeit der Ergebnisse des T_3 -Tests von der T_3 -Konzentration bei gleicher Volumenmenge konnten wir nicht beobachten. Wir veränderten die

$^{131}\text{J-T}_3$ -Konzentration von einem Viertel bis zum Zehnfachen des Normalen: Die Ergebnisse lagen in der Fehlerbreite. - Bei Zusatz von radioaktivem T_3 bleibt nach dem Massenwirkungsgesetz das Bindungsverhältnis konstant. T_4 -Zusatz dagegen verdrängt das T_3 aus seiner Proteinbindung. Der Sinn der in-vitro-Teste besteht ja gerade darin, daß kleine Veränderungen im T_4 -Gehalt eine starke Reaktion im Ausfall des Testergebnisses bewirken. Dadurch ist auch eine Bestimmung der TBP-Bindungskapazität für T_4 mit T_3 -Testen möglich (WALFISH 1960).

Ad 5 und 6. Als biologischer Untersuchungstoff werden nur 0,3 ml Serum benötigt, von allen vier Testen also am wenigsten. Im Materialverbrauch ist er etwas teurer als der EAT und der WOLDRING-Test.

Es wurde schon mehrfach erwähnt, daß das Ergebnis der T_3 -in-vitro-Teste vom Plasmaeiweißspektrum abhängt. Die Plasmaproteine können durch verschiedene exogene und endogene Faktoren verändert werden. So finden wir für die in-vitro-Teste eine erhöhte T_3 -Aufnahme bei Nephrosen, schweren Leberkrankheiten, Dysproteinämie, bei Behandlung mit Medikamenten wie Antikoagulantien, anionische Antirheumatika (z.B. Butazolidin, Tanderil), Sulfonamide (z.B. Orisul, Gantrisin) (KALLEE et al. 1963)

Bromsulfonphthalein,
Diuretika und
anabole Steroide.

Erniedrigte T_3 -Aufnahme sehen wir
bei Menstruation,
Oestrogen-Behandlung und
Schwangerschaft.

Ein Oestrogen-Anstieg im Blut führt zu einer Vermehrung von TBP und somit der spezifischen Trägerproteine für die

Schilddrüsenhormone, wie durch exogene Hormonzufuhr gezeigt werden konnte. Solche Verhältnisse finden wir während der Schwangerschaft. Die Oestrogenproduktion zunächst des Schwangerschaftsgelbkörpers und später besonders der Plazenta steigt mit dem Beginn der Schwangerschaft an, um nach der Entbindung wieder abzusinken. Zwar ist das PBJ und BEJ während dieser Zeit auch über seinen Normalwert hinaus erhöht. Dennoch sind die Bindungskapazitäten erheblich größer als bei den Euthyreosen, so daß ein großer Teil des exogen zugesetzten $^{131}\text{J}-\text{T}_3$ zusätzlich gebunden werden kann. Die Aufnahmewerte des Harzes sind dadurch so erniedrigt, wie wir es bei den Hypothyreosen finden. Erniedrigte Ergebnisse auf Grund des erhöhten TBP während der Schwangerschaft konnten auch mit den bisherigen Methoden festgestellt werden, ein unterschiedliches Testergebnis aber im gesamten Verlauf der Gestationsdauer war mit der Signette-Methode erstmals statistisch zu sichern. Der Oestrogenspiegel steigt in der Schwangerschaft in Form einer Sättigungskurve auf das 500- bis 1000fache der Norm an (HALLER 1965). Auf Grund unserer Versuche kann noch nicht entschieden werden, ob der Verlauf des T_3 -Testes während der Gestationsperiode komplementär dazu in Form einer Exponentialfunktion verläuft. Sollte sich der episodische Anstieg zwischen Mens 5 und Mens 7 bei ausgedehnteren Untersuchungen statistisch sichern lassen, müsste man verschiedene Veränderungen (Oestrogenabfall, Eiweißverschiebungen) in Betracht ziehen. GROSSBLATT (1963) teilte PBJ-Untersuchungen bei Schwangeren mit. Danach sind die PBJ-Werte im ersten Trimester erhöht, im zweiten Trimester liegen sie etwas niedriger, um im dritten Trimester wieder anzusteigen, ohne die Höhe des ersten Trimesters zu erreichen.

53 Schwangeren verschiedenen langer Gestationsdauer wurden untersucht. Abb. 22 S. 47 zeigt den Kurvenverlauf, der mit Hilfe der Mittelwerte für die einzelnen Schwangerschaftsmonate erstellt wurde. Schon der Mittelwert für den 2. Gestationsmonat liegt eindeutig ausserhalb des 2 σ -Bereiches der

Euthyreoten. Die Kurve fällt bis Mens 5 steil und konstant ab, um bis Mens 7 wieder geringfügig anzusteigen. Nach Mens 7 erfolgt ein kontinuierlicher Abfall bis Mens 10. Aus der Abb. 18 S. 27 läßt sich entnehmen, daß ein Fall mit fünfwöchiger Gravidität schon erfasst werden konnte. Er liegt klar ausserhalb des 2 $\frac{1}{2}$ - Bereiches der Euthyreotengruppe. Insgesamt gesehen liegen von den untersuchten Schwangeren Mens 2 50% innerhalb und 50% außerhalb des euthyreoten 2 $\frac{1}{2}$ -Bereiches; sie liegen aber ohne Ausnahme außerhalb des 1 $\frac{1}{2}$ -Bereiches. Die Frage, ob der Signette- T_3 -Test für die Diagnose einer Frühgravidität geeignet ist, läßt sich dahingehend beantworten, daß wir bei sonst normalen Verhältnissen eine Frühgravidität bestätigen, aber nicht ausschließen können. Die Treffsicherheit kann nur verbessert werden, wenn von der Patientin ein Vorwert bekannt ist.

In den ersten Gestationswochen (5. und 6.) haben der Pregnosticon-Test und noch mehr der Gravindex-Test eine verminderte Treffsicherheit (KELLER 1965). Da der immunologische HCG - Nachweis und der indirekte Nachweis der Oestrogenvermehrung zwei völlig verschiedene Prinzipien sind, müßte es möglich sein, durch gleichzeitige Anwendung beider Untersuchungen die Treffsicherheit in der Diagnose der Frühgravidität zu erhöhen. Zur klinischen Bedeutung dieser verbesserten Treffsicherheit soll darauf hingewiesen werden, daß ein negativer Schwangerschaftstest bei bestehender Schwangerschaft dazu führen kann, daß durch Röntgendiagnostik oder Medikamente die Frucht geschädigt wird. - In der Tabelle 5 haben wir einige besondere Fälle zusammengetragen, deren Beurteilung durch weitere Untersuchungen gefestigt werden muß. Mehrere Autoren haben schon darauf hingewiesen, daß eine Beziehung zwischen normalen ^{131}J - T_3 -Aufnahmewerten bei Schwangeren und Abortneigung bzw. intrauterinem Kindstod besteht. (MITCHELL 1960, FREEDBERG 1962, HALLER 1965). Als Ursache nimmt man eine verminderte Oestrogenproduktion an, wie es z.B.

Abb. 19 Vergleich des Signette-T₃-Tests und des HAMOLSKY-Tests. Es sind die 2 σ -Grenzen der Normbereiche eingezeichnet. (Die 2 σ -Grenzen des HAMOLSKY-Tests sind für die Fälle, bei denen gleichzeitig ein Signette-T₃-Test angesetzt wurde, gesondert berechnet und in dieser Abb. verwendet worden, da sie etwas enger liegen als in unserem gesamten mit dem HAMOLSKY-Test untersuchten Krankengut.)

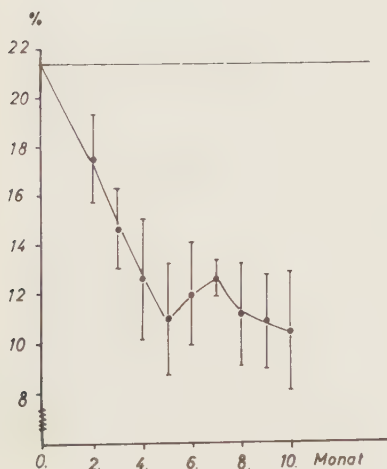
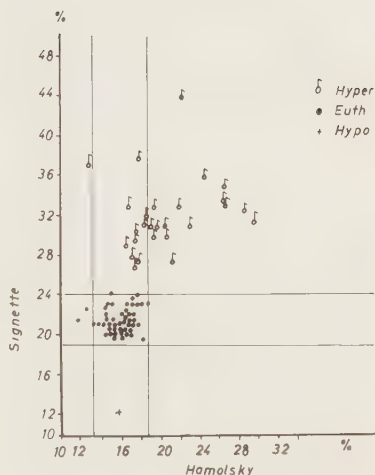


Abb. 20 Mittelwerte mit 2 σ -Grenzen und Mittelwertskurve bei Schwangeren in Abhängigkeit von den Gestationsmonaten.

bei einer funktionsuntüchtigen Plazenta denkbar wäre. Wir haben die Signette-Werte dem Pregnosticon-Test und dem klinischen Bild gegenübergestellt.

1. Bei Abortus imminens (Mens 2 - Mens 6) liegen die Signette-Werte eindeutig im euthyreoten Bereich. Es besteht also aller Wahrscheinlichkeit nach eine Störung in der Oestrogenproduktion als Ursache der Abortneigung. Im Falle Ma. war klinisch eine dysfunktionelle Blutung diagnostiziert worden, Pregnosticon negativ, BST seit 43 Tagen im graviden Bereich und Signette-Test für Gravidität positiv. Eine histologische Klärung war wegen Verzicht auf eine Abrasio nicht möglich. Bei der Patientin Mai. zeigen Pregnosticon und Signette keine Übereinstimmung; während der Pregnosticon-Test noch wie bei einer normalen Schwangerschaft reagiert, weist der Signette- T_3 -Test schon auf die beschriebene Abortneigung hin. In diesem Falle kam es kurze Zeit später zum Abortus incompletus, der ausgeräumt wurde.

2. Abortus incompletus (Mens 4). Dieser Zustand bestand im Falle Bö. seit 4 Wochen. Die Trijodthyronin-Speicherwerte sind inzwischen wieder zur Norm angestiegen.

3. Zustand nach Abort. Auffällig sind in dieser Gruppe die unterschiedlichen Signette- T_3 -Ergebnisse, die teils im Schwangeren-, teils im Euthyreosenbereich liegen. Nun kann es aus verschiedenen Gründen zum Abort kommen, sie können hormoneller, aber auch anderer Natur sein. Nehmen wir zuerst die erste Möglichkeit, so könnte man damit die euthyreoten Werte erklären. Die ^{131}J - T_3 -Werte haben sich, falls sie überhaupt abgefallen waren, wieder normalisiert. Der Abort erscheint dadurch vorbestimmt. Es sollte also ab Mens 3 möglich sein, mit großer Wahrscheinlichkeit bei euthyreotem Ausfall des Testes die Prognose eines nichtaufhaltbaren Abortes zu stellen. Anders im zweiten Falle, wo wir die Werte noch im Schwangerenbereich vorfinden. Das Plasmaeiweißspektrum konnte sich nach der Oestrogeneinwirkung nicht so schnell wieder zur Norm verändern. Hier müssen also andere Ursachen für den Abort vorliegen.

Beurteilen wir die Teste zusammenfassend nach ihrer Gesamtwertigkeit, so liegt der Signette- T_3 -Test weitaus an der Spitze, was Treffsicherheit, geringen Zeit- und Arbeitsaufwand, methodische Einfachheit und geringe Menge des Untersuchungsstoffs anbelangt. Im Materialverbrauch liegt er an dritter Stelle hinter dem HAMOLSKY- und WOLDRING-Test. Unter einwandfreien Voraussetzungen, d.h.

1. Korrektes methodisches Vorgehen unter stets gleichbleibenden Bedingungen,
2. Normales Eiweißspektrum,
3. Ausschluß einer die Bindungskapazität der Proteine beeinflussenden Prämedikation,

ist der Test nicht nur als Screeningtest brauchbar, sondern vermag auch in den entsprechenden Situationen wie in der Pädiatrie, in Eil- und Grenzfällen, nach Jodmedikamentation und vor allem als Therapiekontrolle einer Hypertnyreose in kurzen Abständen das Radiojod-2-Phasen-Studium vollwertig zu ersetzen.

Der HAMOLSKY-Test besitzt nach unserer Versuchsreihe die zweitbeste Treffsicherheit. Sie reicht für eine Eignung als Screeningtest nicht aus. Sein Arbeits- und Zeitaufwand liegt zwischen WOLDRING- und Sephadex-Methode, die Möglichkeiten zu methodischen Fehlern sind relativ zahlreich. Zusammen mit dem Sephadex-Test benötigt er am meisten Untersuchungsstoff, der Materialverbrauch ist am geringsten.

Nach den vorliegenden Ergebnissen und bei unserer Versuchsanordnung eignen sich der WOLDRING- und der Sephadex-Test nicht zur Differentialdiagnose der Schilddrüsenerkrankungen.

Zusammenfassung

Die Verteilung markierter Schilddrüsenhormone zwischen Serumproteinen und einem Testsystem hängt vom endogenen Thyroxinspiegel ab und erlaubt deshalb einen Rückschluß auf die Schilddrüsenfunktion. Zahlreiche Faktoren, wie Serumweißkonstellation, pH, thyroxin- und trijodthyroninverdrängende Medikamente können das Testergebnis verfälschen. Dank der Vorteile der in-vitro-Teste - Vermeidung einer Strahlenbelastung und Belästigung des Patienten, geringerer Zeitbedarf als der 2-Phasen-Radiojodtest, Unempfindlichkeit gegenüber Jodmedikation und anderen Eingriffen in den Schilddrüsenpool - wurden sie aber trotzdem als Routinemethoden an zahlreichen Kliniken eingeführt. Die hier klinisch und zum Teil methodisch geprüften Verfahren zur in-vitro-Bestimmung der Schilddrüsenfunktion, der Erythrozytenaufnahmetest nach HAMOLSKY, der Ionenaustauschertest nach WOLDRING sowie die Methoden mit der Sephadexsäule und der Signette unterscheiden sich wesentlich durch Reproduzierbarkeit, Zeitbedarf, Arbeitsaufwand, Fehleranfälligkeit und Treffsicherheit. In ihrer Aussagekraft wurden sie mit anderen Parametern der Schilddrüsenfunktionsdiagnostik verglichen.

Nach Untersuchungen von 259 Patienten liegt in der Beurteilung der Gesamtwertigkeit der Signette- T_3 -Test weitaus an der Spitze, was Treffsicherheit, geringen Arbeits- und Zeitaufwand, methodische Einfachheit und geringe Menge des Untersuchungsstoffes anbelangt. Unter einwandfreien Voraussetzungen ist der Test nicht nur als Screeningtest brauchbar, sondern ist auch in der Pädiatrie und vor allem als Therapiekontrolle einer Hyperthyreose in kurzen Zeitabständen besonders geeignet. Bei Untersuchungen von 53 Schwangeren mit verschieden langer Gestationsdauer konnte die Erfahrung erniedrigter Ergebnisse im hypothyreoten Bereich nicht nur bestätigt, sondern darüber hinaus ein unterschiedliches Testergebnis im gesamten Verlauf der Schwangerschaft erstmals mit der Signette-Methode statistisch gesichert werden.

Der HAMOLSKY-Test besitzt nach unserer Versuchsreihe die zweitbeste Treffsicherheit, die für eine Eignung als Screening-Test jedoch nicht ausreicht. - Nach den vorliegenden Ergebnissen und bei unserer Versuchsanordnung eignen sich der WOLDRING-Test und der Sephadex-Test nicht zur Differentialdiagnose der Schilddrüsenerkrankungen.

ADAMS, R.; SPEENT, N. and WOODWARD, J.:

Labelling of Erythrocytes in vitro with Radioiodine tagged L-Triiodothyronine as an Index of Thyroid Function: An improved Hematocrit Correction.

J. Clin. Endocrinol. 20 (1960) 1366

ALY, F.W.; GILLICH, K.H.: Immunelektrophoretischer Nachweis des Thyroxin-Transportes durch Serumproteine mit besonderer Berücksichtigung des tryptophanreichen Praealbumins.

Protides of the Biol. Fluids Proc. of the 8th Colloq.

Bruges 1960, 152

ALY, F.W. u. GILLICH, K.H.: Eine Methode zum Nachweis der Hormonbindung von Serumfraktionen.

Die Naturwissenschaften 47 (1960) 280

BANSI, H.: Schilddrüsendiagnostik mit Radiojod. Aus Schwiegk:

Künstliche radioaktive Isotope in

Physiologie, Diagnostik und Therapie. Band 2 (1961)

Springer Verlag, Berlin, S. 632

BARKER, S.B. a. HUMPHREY, M.J.: Clinical Determination of Protein Bound Iodine in Plasma.

J. Clin. Endocr. 10 (1950) 1136

BARRETT, O.; BERMAN A. u. MAIER, J.G.: Uptake of ^{131}J -L-Triiodothyronine in various Erythrocyte Abnormalities

Clin. Res. 8 (1960) 106

BARRETT, O.; BERMAN, A. u. MAIER, J.G.: Uptake of ^{131}J -L-Triiodothyronine in various Erythrocyte Abnormalities.

J. Clin. Endocrinol. 20 (1960) 1467

BÖRNER, W.; HILBACH, W.: ^{131}J -Trijodthyronin-in-vitro-Test in der Schilddrüsendiagnostik.

Med. Welt 15 (1964) 832

BRANDS, K.H. u. GRAUL, E.H.: Schilddrüse und Tumorstadium. Die Speicherung von ^{131}J durch die Schilddrüse unter dem Einfluß verschieden dosierter Keimdrüsenhormone.

Archiv f. Geschwulstforschung 11 (1957) 181

CHRISTENSEN, L.K.: Triiodothyronine uptake by Erythrocytes.

Endocrinology 66 (1960) 138

CHRISTENSEN, L.K.: Studies with Triiodothyronine by Thyroid Disease

Acta Med. Scand. 166 (1960) 141

- CRISPELL, K.R. u. COLEMAN, J.: A Study of the Relative Binding Capacity of Plasma Proteins, Intact Human Red Cells, and Human Red Cell Stroma for Radioactive ^{131}J -Labelled L-Thyroxine.
J. Clin. Investig. 35 (1956) 475
- CRISPELL, K.R.; KAHANA, S. u. HYER, K.: The Effect of Plasma on the in-vitro Uptake or Binding by Human Red Cells of ^{131}J - Labelled-L-Triiodothyronine and L-Thyroxine.
J. Clin. Investig. 35 (1956) 121
- CRISPELL, K.R.; COLEMANN, J. u. HEYER, H.: Factors Affecting the Binding Capacity of Human Erythrocytes for ^{131}J -Labelled-L-Thyroxine and L-Triiodothyronine.
J. Clin. Endocr.a. Metabol. 17 (1957) 1305
- DEISS, W.P., ALBRIGHT, E.C. u. LARSON, F.C.:
A Study of the Nature of the Circulating Thyroid Hormone in Euthyroid and Hyperthyroid Subjects by Use of Paper Electrophoresis.
J. Clin. Investig. 31 (1952) 1009
- DEISS, W.P.; ALBRIGHT, E.C. u. LARSON, F.C.: Comparison of in vitro Serum Protein Binding of Thyroxine and Triiodothyroxine.
Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 84 (1953) 513
- DOWLING, J. Th.; FREINKEL, N. u. INGBAR, S.H.: Thyroxine-Binding by Sera of Pregnant Women.
J. Clin. Endocr. a. Metabol. 16 (1956) 180
- DOWLING, J.Th.; FREINKEL, N. u. INGBAR, S.H.: Effect of Diethylstilbestrol on the Binding of Thyroxine in Serum.
J. Clin. Endocr. a. Metabol. 16 (1956) 1491
- DOWLING, J.Th.; FREINKEL, N. u. INGBAR, S.H.: Thyroxine-Binding by Sera of Pregnant Women, Newborn Infants, and Women with Spontaneous Abortion.
J. Clin. Investig. 35 (1956) 1263
- DOWLING, J.Th.; FREINKEL, N. u. INGBAR, S.H.: The Effect of Estrogens upon the Peripheral Metabolism of Thyroxine.
J. Clin. Investig. 39 (1960) 1119

- FREEDBERG, A.S.; CHAMOVITZ, D.L. u. KURLAND, G.S.: Thyroid Function in Normal and Pathological States Revealed by Radioactive Iodine Studies. I. Thyroid- ^{131}J -Uptake and Turnover in Euthyroid, Hyperthyroid, and Hypothyroid Subjects. Metabolism 1 (1952) 26
- FREEDBERG, A. S.; CHAMOVITZ, D.L. u. KURLAND, G.S.: II. Factors Influencing the Uptake and Turnover of ^{131}J by the Thyroid Gland. Metabolism 1 (1952) 36
- FREEDBERG, A.G. u. HAMOLSKY, M.W.: The Usefulness of the in vitro Erythrocyte Uptake of ^{131}J -Triiodothyronine in the Diagnosis and Therapy of Thyroid Disorders. Aus Radioaktive Isotope in Klinik u. Forschung, Band 5 (1962) Verlag Urban u. Schwarzenberg, München
- FREINKEL, N.; DOWLING, J.T. u. INGBAR, S.H.: The Interaction of Thyroxine with Plasma Proteins: Localization of Thyroxine-Binding Proteins in ~~Colm~~ Fractions of Plasma. J. Clin. Investig. 34 (1955) 1698
- FREINKEL, N.; INGBAR, S.H.; DOWLING, J.T.: The Influence of Extracellular Thyroxine-Binding Protein upon the Accumulation of Thyroxine by Tissue Slices. J. Clin. Investig. 36 (1951) 25
- FRIEDERICH, R.: Die Stellung des ^{131}J Erythrozyten-Trijodthyronin-tests in der Schilddrüsendiagnostik Schweiz. Med. Wschr. 19 (1965) 624
- FRIIS, T.: In vitro Uptake of ^{131}J labelled L-Triiodothyronine by Human Erythrocytes Acta Endocrinol. 33 (1960) 117
- FRIIS, T.: On the Mechanism of the in vitro Uptake of ^{131}J labelled L-Triiodothyronine by Human Erythrocytes. Acta Endocrinol. 33 (1960) 134

- GEORGI, P.; NOWACK, W.; HENSCHHEL, H.-J.: Untersuchungen zum ^{131}J -Trijodthyronin-Erythrozyten-Aufnahmetest.
Zschr. f. die gesamte Med. u. ihre Grenzgebiete 20 (1965) 23
- GILLICH, K.H. u. ALY, F.W.: Die Präalbumin-Thyroxin- und Trijodthyroninbindung im Serum.
Verhlg.d.Dtsch.Ges.f.Inn. Medizin, CC. Kongress 1960, 711
- GOOLDEN, A.W.; GARTSIEN, J.; OSORIO, C.: An Evalution of the ^{131}J -Triiodothyronine Resin Sponge Test.
J. Clin. Endocrin. 25 (1965) 127
- GRAB, W. u. OBERDISSE, K.: Die medikamentöse Behandlung der Schilddrüsenerkrankungen.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1959
- GRAUL, E.H.; STUMPF, W. u. KREYE, A.: In-vitro-Bestimmung der Schilddrüsenfunktion mit Hilfe des radioaktivmarkierten Trijodthyronins
Med. Klin. 57 (1962) 1562
- GRAUL, E.H. u. STUMPF, W.: Schilddrüsenfunktionsdiagnostik mit Radiojod ohne Inkorporierung des Radionuklids
Dtsch. med. Wschr. 39 (1963) 1886
- GRAUL, E.H.; HUNDESHAGEN, H.; KUNI, H.; SCHAUMLÖFFEL, E.: Anwendungsbeispiele von Schnellmarkierungsverfahren mit der Signette.
ATOMPRAXIS 1 (1964) 10
- GROßBLATT, R.S.:

Probl. Endokr. Gormonotet. 9 (1963) 95
- GROSS, J. u. PITT-RIVERS, R.: The Identification of 3, 5, 3' - Triiodothyronine in Human Plasma.
Lancet 262 (1952) 439
- GROSS, J. u. PITT-RIVERS, R.: Physiological Activity of 3, 5, 3'-Triiodothyronine.
Lancet I (1952) 593
- GROSS, J. u. PITT-RIVERS, R.: 3, 5, 3'-Triiodothyronine.
1. Isolation from Thyroid Gland and Synthesis.
Biochem. J. 53 (1953) 645
- GROSS, J. u. PITT-RIVERS, R.: 3, 5, 3' - Triiodothyronine.
2. Physiological Activity.
Biochem. J. 53 (1953) 652

- HALLER, J. u. DÖRING, P.: Der ^{131}J -Trijodthyronintest in der Schwangerschaft.
Zschr. f. Gynaekol. 183 (1965) 243
- HAMOLSKY, M.W.: The Plasma Protein-Thyroid Hormone Complex in Thyrotoxicosis a. Euthyroidism in Man.
J. Clin. Investig. 34 (1955) 914
- HAMOLSKY, M.W. und FREEDBERG, A.S.: The Circulating Thyroid Hormone-Plasma Protein Complex in Euthyroid and Hyperthyroid Subjects, Differences in Rate of Disappearance in Dogs and "Uptake".
Tr. Amer. Goiter Ass. (1954) 629
- HAMOLSKY, M.W.; ELLISON, J u. FREEDBERG, A.S.: The Thyroid Hormone-Plasma Protein Complex in Man. I. Differences in Different States of Thyroid Function.
J. Clin. Investig. 36 (1957) 1486
- HAMOLSKY, M.W.; STEIN, M. u. FREEDBERG, A.S.: The Thyroid Hormone-Plasma Protein Complex in Man. II. A New in vitro Method for Study of "Up-Take" of labelled Hormonal Compounds by Human Erythrocytes.
J. Clin. Endocr. 17 (1957) 33
- HAMOLSKY, M.W.; GOL ODETZ, A. u. FREEDBERG, A.S.: The Plasma Protein Thyroid Hormone Complex in Man. III. Further Studies on the Use of the in vitro Red Blood Cell Uptake of ^{131}J -Triiodthyronine as a Diagnostic Test of Thyroid Function.
J. Clin. Endocr. a. Metabol 19 (1959) 103
- HÖFER, R. u. VETTER: Der Nembutal - Grundumsatz.
Wien. klin. Wschr. 9 (1958) 169
- HOFFMANN-CREDNER, G.: Neue Aspekte der Anwendung künstlicher Radioisotope in der klinischen Diagnostik.
ATOMPRAXIS 7 (1957) 84
- HOGNESS, J.R.; LEE, N.D.; BERG, M.K. u. WILLIAMS, R.H.: The Concentration and Binding of Thyroxine and Triiodothyronine by Rat Diaphragm.
J. Clin. Investig. 36 (1957) 803
- HORST, W. u. RÖSLER, H.: Der Transport des Hormonjods in menschlichem Serum, untersucht mit Papierelektrophorese und Radiojod.
Klin. Wschr. 31 (1953) 13

- HORST, W.: Neue Ergebnisse der Auswertung von ^{131}J in Diagnostik und Therapie von Schilddrüsenerkrankungen.
Strahlentherapie 94 (1954) 169
- HORST, W.: Transport und Bindung im Serum. Untersucht mit Papierelektrophorese und radioaktiven Indikatoren ($\text{Fe}^{55/59}$; Cu^{64} ; $\text{Co}^{56/57}$; Mn^{52} ; Ca^{67} ; S^{35} ; J^{131}).
Klin. Wschr. 32 (1954) 961
- HORST, W.: Klinische Radiojoddiagnostik der Schilddrüsenerkrankungen. Aus: Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung.
Georg Thieme Verlag 1959
- HORST, W.; THIEMANN, H.-J. u. ZUCKSCHWERTDT, C.: Neue Ergebnisse der Differentialdiagnostik von Schilddrüsenerkrankungen durch die Szintigraphie und das Radiojod-3-Phasenstudium.
Dtsch. Med. Wschr. 85 (1960) 711
- HORSTER, F.A. u. KLEIN, E.: Anwendung von radioaktivem Trijodthyronin zur Diagnostik der Schilddrüsenfunktion in vitro.
Dtsch. med. Wschr. 10 (1964) 89
- HULLMANN, H.D. u. FREYSCHMIDT, P.: Erfahrungen mit einer kombinierten Schilddrüsenfunktionsdiagnostik.
Klin. Wschr. 13 (1965) 725
- INGBAR, S.H.: Prealbumin: A Thyroxine-Binding Protein of Human Plasma.
Endocrinology 63 (1958) 256
- Ingbar, S.H.: Prealbumin, a New Thyroxine-Binding Protein of Human Plasma: Its Isolation and Physiological Activity in Normal and Abnormal States.
J. Clin. Investig. 37 (1958) 903
- INGBAR, S.H.; FREINKEL, N.; DOWLING, J.T. u. KUMAGAI, L.F.: The Concentration and Significance of the Butanol-Extractable ^{131}J of Serum in Patients with Diverse States of Thyroid Function.
J. Clin. Investig. 33 (1954) 388
- INGBAR, S.H.; FREINKEL, N.; DOWLING, J.T. u. KUMAGAI, L.F.: Abnormalities of Iodine Metabolism in Euthyroid Relatives of Patients with Graves' Disease.
J. Clin. Investig. 35 (1956) 714

- KALLEE, E.: Persönliche Mitteilung
- KALLEE, E.: Protides of the Biological Fluids.
Proc. of the 7th Colloq., Bruges (1959) 161
- KALLEE, E.; LANG, G. u. HEINZEL, W.: Neuer quantitativer, immunologischer Nachweis der leichtreversiblen Adsorption der Proteine.
Acta Isotopika 3 (1963) 303
- KEIDERLING, W. u. EMRICH, D.: Ein Beitrag zur Diagnostik der Schilddrüsenfunktionsstörungen mit Radiojod (^{131}J).
Klin. Wschr. 38 (1960) 535
- KEIDERLING, W. u. EMRICH, D.: Die Papierchromatographische Auftrennung der ^{131}J -Plasmaaktivität als differentialdiagnostisches Hilfsmittel bei Hyperthyreosen.
Dtsch. Med. Wschr. 85 (1960) 747
- KEIDERLING, W. u. FRANK, K.Th.: Tier experimentelle Untersuchungen über eine Beziehung zwischen Erythrozytenlebenszeit und Schilddrüsenfunktion unter Benutzung der Radiochrommethode.
Klin. Wschr. 38 (1960) 379
- KEIDERLING, W.; EMRICH, D.; PFANNENSTIEL, P.; KLEINE, V. u. HOFFMANN G.:
Klin. Brauchbarkeit der in-vitro-Erythrozyten-Aufnahme von ^{131}J -markiertem Trijodthyronin zur Beurteilung der Schilddrüsenfunktion. Aus:
Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung, Bd. 5 (1962)
- KELLER u. PLETSCHER: Erfahrungen mit biologischen und immunologischen Schwangerschaftstesten.
Schweiz. med. Wschr. 95 (1965) 929
- KLEIN, E.: Probleme in der Beurteilung des Blutjodgehalts.
Dtsch. Med. Wschr. (1952) 1353
- KLEIN, E.: Ein zweites Schilddrüsenhormon: Trijodthyronin.
Dtsch. Med. Wschr. (1954) 1461
- KLEIN, E. u. BRÜGEL, F.: Der Einbau von ^{131}J in die Hormonjodfraktion des Blutes.
Z. klin. Med. 153 (1955) 126
- KLEIN, E.: Die Bestimmung kleinster Jodmengen im Blut.
Biochem. Ztschr. 322 (1952) 388
- KLEIN, E.: Der endogene Jodhaushalt des Menschen und seine Störung.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1960

- KLEIN, E.: Biosynthese und Stoffwechsel der Schilddrüsenhormone.
Dtsch.med. Wschr. 85 (1960) 46
- KLEIN, E.u. BERGHOFF, A.: Der Einfluß von Thyroxin, Trijodthyronin und trijodierten Hormonmetaboliten auf den peripheren Thyroxinumsatz eines Menschen.
Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung
(Bad Gasteiner Intern. Symposion 1959 Bd. 4)
- KUNI, H.; GRAUL, E.H.; HUNDESHAGEN, H.; SCHAUMLÖFFEL, E.: Eine Methode zur Schnellmarkierung der Erythrozyten mit ^{51}Cr .
ATOMPRAXIS 9 (1963) 9
- KURLAND, G.S.; FISHMAN, J.; FREEDBERG, A.S. u. HAMOLSKY, M.W.: Radioisotope Study of Thyroid Function in 21 Mongoloid Subjects Including Observation in 7 Parents.
J. Clin. Endocr. a. Metabol. 17 (1957) 552
- KURLAND, G.S.; GOLADETZ, A.; HAMOLSKY, M.W. u. FREEDBERG, S.A.: Thyroid Function in Supraventricular Tachycardie. Turnover of Intravenously Infused ^{131}I -Labelled-Thyroxine and the Red Blood Cell Uptake of ^{131}I -Labelled Triiodothyronine.
J. Clin. Endocr. a. Metabol. 19 (1959) 92
- LARSON, F.; DEISS, W.P. u. ALBRIGHT, E.C.: Localization of Protein Bound Radioaktive Iodine by Filter Paper Electrophoresis.
Science 115 (1952) 626
- LARSON, F.; DEISS, W.P. u. ALBRIGHT, E.C.: Radiochromatographische Identification of Thyroxine in an Alpha Globulin Fraction of Serum Separated by Starch Zone Electrophoresis
J. Clin. Investig. 33 (1954) 230
- LEONHARDT, H.K.: Die Differentialdiagnose von Schilddrüsenkrankheiten und vegetativen Störungen mit Hilfe der Grundumsatzbestimmung im Schlaf.
Münch.med. Wschr. (1953) 289
- LISSITZKI, J. u. BISMUTH, F.: Quantitative Determination of the Concentrations of ^{131}I - L - Thyroxine and ^{131}I - L - Triiodothyronine in the Serum by Filtration on Dextran Gel Sephadex.
Clin. chim. Acta 8 (1963) 269

- MARINIS, S.; DEBIASI, S. u. KALLEE, E.: Verdrängung von ^{131}J -
Trijodthyronin durch anionische Medikamente im Trijod -
thyronintest.
Acta Isotopica 3 (1963) 303
- MARINIS, S.; DEBIASI, S. u. KALLEE, E.: Verdrängung von ^{131}J -
Trijodthyronin durch anionische Medikamente.
Acta Isotopica 3 (1963) 269
- MEADE, R.C.: Possible Errors in the Determination of Red Blood Cell
Uptake of ^{131}J -Triiodothyronin.
J. Clin. Endocr.a. Metabol. 20 (1960) 480
- MITCHELL, M.L., HARDIN, A.B. a. O'ROURKE, M.E.: Observations on the
Sponge Binding of Triiodothyronine ^{131}J in Serum.
Clin. Res. 8 (1960) 243
- MITCHELL, M.L.: Resin Uptake of Radiothyroxine in Sera from
Nonpregnant and Pregnant Women.
J. Clin. Endocrinol 18 (1958) 1437
- MITCHEL, M.L.; HARDIN, A.B. a. O'ROURKE, M.E.: In Vitro Resin Sponge
Uptake of Triiodothyronine ^{131}J from Serum in Thyroid Disease
and in Pregnancy.
- MURPHY, M.E.: Routine Clinical Laboratory use of an in Vitro
Radioisotope Procedure.
Am. J. M. Tech. P. 381 (1959)
- MURPHY, M.E. a. PATTEE, J.: Determination of the Free Thyroxine
Content of the Serum.
J. Clin. Endocr. 24 (1964) 486
- OLIVER, L. a. HARMS, J.C.: Comparison of the Resin Uptake of
 ^{131}I -Labelled Triiodothyronine and Thyroxine in Hyperthyroidism
and other Conditions.
J. Nucl. Med. 3 (1964) 218
- Pitt-Rivers, R., Galton, V.A. a. HALMI, N.S.: Nature of Radioiodine
not Dischargeable with Perchlorate in Thyroid glands of
Thiouracil-Treated Rats.
Endocrinology 63 (1958) 699
- PITT-RIVERS, R. a. TATA, J.R.: The Thyroid Hormones.
London: Pergamon Press 1959

- ROBBINS, J. u. RALL, Z.E.: Zone Electrophoresis in Filter Paper of Serum ^{131}J after Radioiodide Administration. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 81 (1952) 530
- ROBBINS, J.: Reverse-Flow Zone Electrophoresis, a Method for Determining the Thyroxine-Binding Capacity of Serum Proteine. Arch. Biochem. a. Biophys. 63 (1956) 461
- ROBBINS, J. a. RALL, J.E.: Thyroxine-Binding Capacity of Serum in Human Man. J. Clin. Investig. 34 (1955) 44
- ROBBINS, J.; RALL, J.F. a. RAWSON, R.W.: A New Serum Iodine Component in Patients with Functional Carcinoma of the Thyroid. J. Clin. Endocr. a. Metabol. 15 (1955) 1315
- ROBBINS, J.: Thyroxine-Binding Capacity of Serum in Pregnancy. Fed. Proc. 15 (1956) 150
- ROBBINS, J. a. NELSON, C.: Thyroxine-Binding by Serum Proteine in Pregnancy and in the New Born. J. Clin. Investig. 37 (1958) 153
- ROBBINS, L.R. a. MURPHY, M.E.: Experience with the in vitro Erythrocyte Uptake of ^{131}J -Labelled - L - Triiodothyronine in a Routine Clinical Laboratory. J. Clin. Endocr. 19 (1959) 1292
- ROCHE, J.; LISSITZKY, S.; MICHEL, R.: Sur la triiodothyronine produit intermédiaire de la transformation de la diiodothyronine en thyroxine. C.r. Acad. sc. 234 (1952) 292
- ROCHE, J.; LISSITZKY, S.; MICHEL, R.: Sur la présence de triiodothyronine dans la thyroglobuline. C.r. Acad. Sc. 234 (1952) 1228
- ROCHE, J.; MICHEL, R.: Nature, Biosynthesis and Metabolism of Thyroid Hormones. Physiol. Rev. 35 (1955) 583

- SHAPIRO, B. a. RABINOWITZ, J.: A Chromatographic Method Utilizing Sephadex for the Separation of Free Iodide, Protein-Bound and Unbound Triiodothyronine in Sera. J. Nucl. Med. 3 (1962) 309
- SHAPIRO, B. a. RABINOWITZ, J.: Sephadex Chromatographic Test in the Evaluation of the Thyroid Function. J. Nucl. Med. 4 (1963) 139
- SODEE, B. a. BERMAN, R.: The Value of the ^{131}J -Labelled Triiodothyronine Red Cell Uptake in the Study of Thyroid Physiology. Aus: Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung 5. Intern. Symposion in Bad Gastein 1962
- STAEMMLER, H.J.: Grundriß der Gynäkologischen Endokrinologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1965
- STARR, P.; SINPES, G.; LIEBHOLD, A.; SCHULZ, R.: Biologic Effects of Triiodothyronine in Human Subjects. J. Clin. Endocrin. a. Metabol. 15 (1955) 98
- STARR, P.; LIEBHOLD a. SCHULZ, R.: Effect of Oral Thyroxine and Triiodothyronine on Radioactive Iodine Uptake and Serum Protein Bound Iodine in Normal Human Subjects. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Metabol. 83 (1953) 52
- STERLING, K.: Erythrocyte Uptake of ^{131}J -labelled Triiodothyronine as a Test of Thyroid Function. Clin. Res. 7 (1959) 242
- STERLING, K. a. TABACHNICK, M.: Resin Uptake of Triiodothyronine as a Test of Thyroid Function. Clin. Res. 8 (1960) 378
- STERLING, K. a. TABACHNICK, M.: Resin Uptake of ^{131}J -Triiodothyronine as a Test of Thyroid Function. J. Clin. Endocrinol 21 (1961) 456
- STERLING, K; LASHOFF, J.C. a. MAN, E.B.: Disappearance from Serum of ^{131}J -Labelled - L - Thyroxine and L-Triiodothyronine in Euthyroid Subjects. J. Clin. Investig 33 (1954) 103

- STUMPF, W. a. GRAUL, E.H.: In-vitro-Bestimmung der Schilddrüsenfunktion mit dem Serum- T_3 -Test. (Nachweis von proteingebundenem ^{131}J markiertem 1 - 3, 5, 3' Trijodthyronine mit Gelfiltration.
Med. Klin. 5 (1963) 19
- TATA, J.R.: A Cellular Thyroxine-Binding Protein Fraction.
Biochim. biophys. Acta 28 (1958) 91
- TATA, J.R.: A New Aspect of the Interaction between Thyroxine and Proteins.
Biochem. J. 72 (1959) 222
- TATA, J.R.: An Unusual Property of Thyroxine and other Iodophenols
Biochem. J. 72 (1959) 214
- TAUROG, A. a. CHAIKOFF, J.C.: On the Determination of Plasma Iodine.
J. Biol. Chem. 163 (1946) 313
- URELESS, A.L. a. MURRAY, M.: The Erythrocyte Uptake of ^{131}J -Labelled L-Triiodothyronine as a Measure of Thyroid Function.
J. Lab. a. Clin. Med. 54 (1959) 178
- VANNOTTI, A.: Die Schilddrüsenhormone.
Verh. d. Dtsch. Ges. f. Inn. Med. (1960) 29
- VETTER-VEALL: Hämatokrit.
Aus: Radioisotopen-Technik in klin. Forsch. u. Diagnostik 1960
- V. VIGIER, R.: Probleme der Hyperthyreosedagnostik.
Helvetica Med. Acta, Vol. 31 (1964) 191
- WALFISH, P.G.; BRITTON, A. a. VOLPE, R.: Experience with an in vitro Test of Thyroid Function, the Red Blood Cell Uptake of L-Triiodothyronine Labelled with Radioactive Iodine.
Canad. M. A. J. 84 (1961) 657

- WALFISH, P.G.; BRITTON, A. a. VOLPE, R.: Quantitative Plasma Binding Capacity Studies of Thyroxine-Binding Globuline by Use of a Modification of the Erythrocyte-L-Triiodothyronine Uptake Test.
J. Clin. Endocrin. 22 (1962) 178
- WOLDRING, M.G.; BASKER, A. a. DORRENBOS, H.: In vitro Uptake of Radioactive ^{131}J -Labelled-L-Triiodothyronine by Human Erythrocytes as an Index of Thyroid Function.
Acta Endocrinol 34 (1960) 305
- WOLDRING, M.G.; BAKKER, A.; DORRENBOS, H.: The Uptake of ^{131}J -Triiodothyronine by Resin. An in vitro Test of Thyroid Function
Acta Endocrinologica 37 (1961) 607
- ZEIDLER, U. u. GRAUL, E.H.: Unveröffentlichte Ergebnisse.

D a n k s a g u n g

Herrn Prof. Dr. Dr. E. H. G R A U L danke ich für die Überlassung des Themas, für die Förderung der Arbeit und für wertvolle Anregungen.

Herrn Dr. H. K U N I bin ich für die Anleitung zum Signette-Test sowie für praktische Unterstützung und zahlreiche Diskussionen zu Dank verpflichtet.

Für Überlassung von Sera und Diagnosen der Patienten, die mit dem 2-Phasen-Radiojod-Test untersucht wurden, danke ich Herrn Dr. K. J O S E P H ebenso wie für die Einarbeitung in den HAMOLSKY- und Séphadex-Test.

Herr Dr. E. S C H A U M L Ö F F E L hat mich durch zahlreiche technische Ratschläge unterstützt.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Oberarzt Dr. B. O S T E N - D O R F (Universitäts-Frauenklinik, Marburg, Direktor: Prof. Dr. R. B U C H H O L Z), der mich bei der Untersuchung von Sera während Schwangerschaften unterstützte.

LEBENS LAUF

Am 12.7.1938 wurde ich, Alfred Brase, als drittes Kind des Landwirts Oswald Brase und seiner Ehefrau Irmgard, geb. Zieger in Linderode Kreis Sorau geboren. Bis zur Flucht im Jahre 1945 besuchte ich die dortige Volksschule. Wegen der Kriegseignisse folgte eine eineinhalbjährige Unterbrechung des Volksschulbesuches, den ich dann in Etzhorn/Oldenburg fortsetzte. 1949 bestand ich die Aufnahmeprüfung zum Gymnasium in Oldenburg, machte 1958 das Abitur und wurde daraufhin 3 Jahre Soldat. 1961 begann ich mit dem Medizinstudium in Freiburg, machte dort das Vorphysikum und Physikum nach dem 2. bzw. 5. Semester, studierte ein Semester in Kiel und seit dem Wintersemester 1964 an der hiesigen Philipps-Universität. Am 21. Dez. 1966 bestand ich das Medizinische Staatsexamen.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

In Freiburg Brauer, Fleckenstein, Goepfert, Goertler, Hassenstein, Hauenschild, Holzer, Keller, Lüttringhaus, Lüdtko, Mohr, Rose, Staubesand, Zollinger;

in Kiel Bernsmeier, Gärtner, Holland, Huber, Löhr, Overbeck, Staemmler, Weissbecker;

in Marburg Braun-Falco, Beckmann, Berendes, Bickel, Bommer, Buchholz, Dittrich, Dölle, Exner, Gedigk, Graul, Hamm, Heuser, Hildebrand, Jacob, Linneweh, Mann, Martini, Marx, du Mesnil de Rochemont, Petry, Rodeck, Rohen, Schleyer, Schmid, Schrappe, Siegert, Straub, Streicher, Schwaiger, Würterle.

